



**CARMEN LÚCIA
NEVES RODRIGUES**

META-ANÁLISE EM INVESTIGAÇÃO CLÍNICA



**CARMEN LÚCIA
NEVES RODRIGUES**

META-ANÁLISE EM INVESTIGAÇÃO CLÍNICA

Dissertação apresentada à Universidade de Aveiro para cumprimento dos requisitos necessários à obtenção do grau de Mestre em Matemática e Aplicações (2.º ciclo), realizada sob a orientação científica da Professora Doutora Vera Mónica Almeida Afreixo, Professora Auxiliar do Departamento de Matemática da Universidade de Aveiro.

Dedico este trabalho à minha família, em particular ao meu marido Marco Aurélio e à minha filha Catarina, por serem o meu maior apoio em todos os momentos da minha vida.

o júri

Presidente

Prof. Doutor Pedro Filipe Pessoa Macedo
Professor auxiliar do Departamento de Matemática da Universidade de Aveiro

Vogal

Prof. Doutor Nuno Miguel de Sousa Lunet
Professor Auxiliar da Faculdade de Medicina da Universidade do Porto

Vogal

Prof.^a Doutora Vera Mónica Almeida Afreixo
Professora auxiliar do Departamento de Matemática da Universidade de Aveiro

Agradecimentos

A realização desta dissertação de mestrado não teria sido possível sem os importantes apoios e incentivos recebidos ao longo de todo o seu desenvolvimento, pelos quais serei eternamente grata.

À Professora Doutora Vera Afreixo, orientadora da dissertação, pela sua disponibilidade, apoio e compreensão, pela colaboração na resolução de problemas que foram surgindo e pelas palavras de incentivo ao longo de todo o trabalho realizado.

À Raquel Diaz, aluna do programa doutoral em Ciências e Tecnologias da Saúde, e restantes autores que participaram no artigo resultante da meta-análise desenvolvida no âmbito deste trabalho.

À minha família, em particular aos meus pais, marido e filha, pelo apoio incondicional, pelas palavras de incentivo e por toda a ajuda prestada, sem a qual eu não conseguiria disponibilidade para dedicar o tempo e concentração necessários ao desenvolvimento de todo o trabalho.

À minha amiga Sónia, pela sua disponibilidade, por acreditar em mim e pela sua força nos momentos mais difíceis.

A todos, eu dedico um profundo obrigada!

Palavras-chave

Meta-análise, medida de efeito, efeito global, modelos de meta-análise

Resumo

No mundo da ciência e investigação é comum encontrar dezenas e por vezes centenas de estudos sobre a mesma questão de pesquisa. Surge, então, cada vez mais a necessidade de agregar e sintetizar toda essa informação de maneira a que se torne mais útil aos investigadores. A meta-análise utiliza métodos estatísticos de forma a combinar e sumariar os resultados de vários estudos relacionados numa única medida resumo.

Neste trabalho é feita uma breve descrição dos procedimentos mais comuns de meta-análise, em contexto de revisão sistemática, com maior ênfase nos modelos de efeito fixo e de efeitos aleatórios, nos métodos usados para obter o efeito global e nas formas de avaliação de heterogeneidade.

É apresentada uma revisão sistemática e meta-análise realizada com o objetivo de avaliar a evolução, ao longo do tempo, da MIC (concentração mínima inibitória) de vancomicina em infeções por *methicillin-resistant Staphylococcus aureus* (MRSA), e a existência de tendência. Para a meta-análise foram considerados os valores médios de MIC de vancomicina e a proporção de observações com valores de MIC de vancomicina superiores ou iguais a 2 mg/l e avaliada a sua tendência. Verificou-se, por meta-análise, que não há evidência estatística de aumento da MIC de vancomicina ao longo do tempo.

Keywords

Meta-analysis, effect size, overall effect, meta-analysis models

Abstract

In the world of science and research it is common to find dozens and sometimes hundreds of studies on the same research question. Then comes the increasing need to aggregate and synthesize all this information so that it becomes more useful to researchers. Meta-analysis uses statistical methods to combine and summarize the results of several related studies in a single summary measure.

This work presents a brief description of the most common meta-analysis procedures, in a systematic review context, focusing on fixed effect and random effects models, on methods used to obtain the overall effects and ways of evaluating heterogeneity.

A systematic review and meta-analysis is presented in order to evaluate the evolution of the MIC (minimum inhibitory concentration) of vancomycin for infections by methicillin-resistant *Staphylococcus Aureus* (MRSA), and the existence of trend. For the meta-analysis, the mean MIC values of vancomycin and the proportion of observations with vancomycin MIC values greater than or equal to 2 mg / l were considered, and their trend was evaluated. It was found, by meta-analysis, that there is no statistically evidence of MIC creep phenomenon over time.

Combining data from similar studies (meta-analysis) can help to provide more reliable estimates of treatment effects.

The James Lind Library

Índice

Lista de Símbolos	xix
1. Introdução	1
1.1. Nota histórica	2
1.2. Princípios e procedimentos de meta-análise	3
2. Medidas de efeito	9
2.1. Medidas de efeito para dados binários	9
2.1.1 Risco Relativo	10
2.1.2 Diferença de Riscos	12
2.1.3 Odds Ratio	12
2.1.4 Proporção de prevalência	14
2.2. Medidas de efeito para dados contínuos	16
2.2.1 Média	17
2.2.2 Diferença de médias	17
2.2.3 Diferença de médias padronizada	18
2.2.4 Correlação	19
3. Modelos de meta-análise	21
3.1. Modelo de efeito fixo	21
3.1.1 Método da variância inversa	23
3.1.2 Método de Mantel-Haenszel	24
3.1.3 Método de Peto	27
3.2. Modelo de efeitos aleatórios	29
3.2.1 Método de DerSimonian e Laird	30
3.2.2 Método da máxima verosimilhança	31
3.2.3 Método de efeitos de qualidade	32
3.2.4 Método de heterogeneidade de variância inversa	34
3.2.5 Outros métodos de meta-análise de efeitos aleatórios	36
4. Heterogeneidade	37
4.1. Teste Q de Cochran	37
4.2. Estatística I^2	38
4.3. Variância entre estudos	40
4.4. Representações gráficas	41

5. Uma meta-análise	45
5.1. Procedimentos aplicados	45
5.2. Artigo de meta-análise.....	49
6. Conclusão.....	77
Referências	79
Apêndice A – Valor esperado da estatística Q	83

Lista de Símbolos

índice i – referente ao estudo i ou à medida de efeito do estudo i

k – número de estudos da meta-análise

N – dimensão da amostra

θ – verdadeira medida de efeito (efeito global)

$\hat{\theta}$ – estimador da verdadeira medida de efeito

ε – erro de amostragem

ζ – efeitos aleatórios

τ^2 – variância ente estudos

$\hat{\tau}^2$ – estimador da variância entre estudos

σ^2 ou Var – variância

S^2 – variância estimada

σ ou SD – desvio padrão

S – estimador do desvio padrão

SE – erro padrão

μ – média

\bar{X} – estimador para a média

α – nível de significância

$z_{1-1/\alpha}$ – quantil de probabilidade $1 - 1/\alpha$

LI – limite inferior do intervalo de confiança

LS – limite superior do intervalo de confiança

n_T – número de observações no grupo de tratamento

n_C – número de observações no grupo de controlo

n_E – número de observações com evento

n_{NE} – número de observações sem evento

OR - *odds ratio*

RR – risco relativo

DR – diferença de riscos

p – proporção

Δ – diferença de médias

D – estimador da diferença de médias

δ – diferença de médias padronizada

d – estimador da diferença de médias padronizada (d de *Cohen*)

g - estimador ajustado da diferença de médias padronizada (g de *Hedges*)

ρ – coeficiente de correlação

r – estimador do coeficiente de correlação

MH – Mantel-Haenszel

P - Peto

MV – máxima verossimilhança

DL – DerSimonian e Laird

1. Introdução

No mundo da ciência e investigação é comum encontrar dezenas e por vezes centenas de estudos sobre a mesma questão de pesquisa. Surge, então, cada vez mais a necessidade de agregar e sintetizar toda essa informação de maneira a que se torne mais útil aos investigadores. É isso que se faz em meta-análise.

O significado literal da meta-análise é a análise de outras análises [1]. A meta-análise pode ser vista como um método de pesquisa que combina e sumaria os resultados de vários estudos relacionados. Glass (1976) define meta-análise como a análise estatística de uma grande coleção de resultados de análises de estudos individuais para efeitos de integrar os resultados [2, 3]. No entanto, é importante salientar que o conjunto de estudos que integram a meta-análise deve resultar de uma revisão sistemática da literatura, ou seja, de um conjunto de regras para identificar e selecionar estudos sobre uma determinada questão.

A meta-análise, em contexto de revisão sistemática, usa métodos objetivos para encontrar e selecionar estudos para análise; descreve as características dos estudos em termos quantitativos; traduz as medidas de efeito de todos os estudos numa escala comum de medida de efeito e usa métodos estatísticos para relacionar as características de cada estudo obtendo uma medida global [3]. Dependendo do tipo de estudos e da informação reportada em cada um deles existe uma variedade de medidas que podem ser usadas na meta-análise.

Uma das áreas que mais utiliza a meta-análise é a medicina. Existem meta-análises publicadas que sintetizam dados sobre tratamentos e intervenções em quase todas as áreas da saúde. Por exemplo, as empresas farmacêuticas realizam, normalmente, uma série de estudos para avaliar a eficácia de um fármaco. Nesta situação, a meta-análise é usada para sintetizar os dados obtidos nestes estudos, obtendo-se uma estimativa mais precisa do efeito do fármaco. Poder-se-á, também, usar meta-análises para sintetizar os dados sobre eventos adversos, uma vez que esses eventos são normalmente raros e é necessária a acumulação de informações sobre uma série de estudos para avaliar adequadamente o risco destes eventos [4]. No entanto, existem diversas aplicações da meta-análise em muitas outras áreas, como na área da educação, negócios, criminologia, ecologia, entre outras [4]. Por conseguinte, este método de pesquisa tem despertado cada vez mais o interesse de muitos investigadores, verificando-se, nos últimos anos, um aumento exponencial do número de publicações sobre e de meta-análise (Figura 1.1).

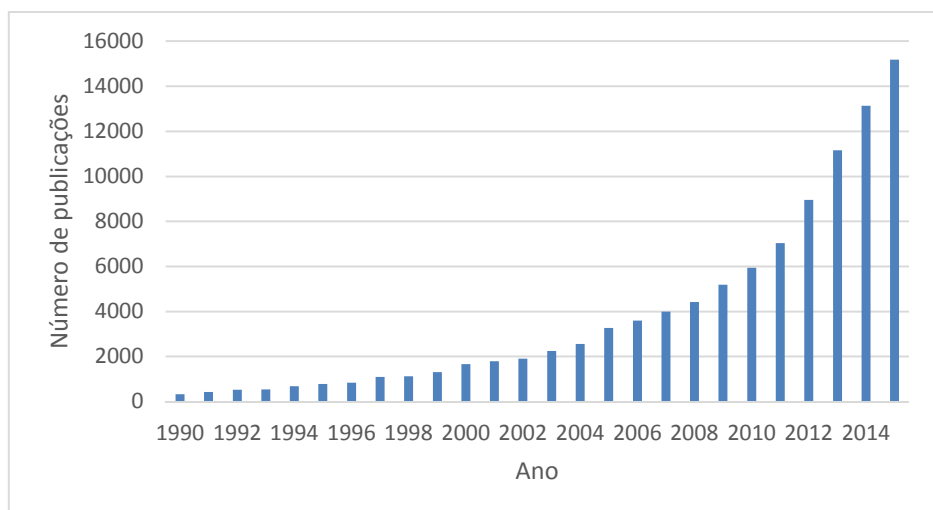


Figura 1.1 – Número de publicações sobre e de meta-análise entre 1990 e 2015 (resultados de pesquisa na base de dados Pubmed usando "meta-analysis"[Publication Type] OR "meta-analysis as topic"[MeSH Terms] OR "meta-analysis"[All Fields]).

1.1. Nota histórica

Um dos primeiros investigadores a usar técnicas formais para combinar dados de diferentes estudos foi Karl Pearson em 1904. Numa publicação no BMJ, Pearson combinou, através de correlações, estudos sobre a vacinação contra a febre tifoide [5]. Em 1931 e 1932, respetivamente, Leoard Tippett e Ronald Fisher desenvolveram métodos para combinar valores-*p* de diferentes estudos [5, 6].

A primeira meta-análise sobre uma situação clínica foi publicada em 1955, por Beecher no JAMA e referia-se à análise do efeito de uma intervenção terapêutica. É em 1976 que surge pela primeira vez o termo meta-análise pelo psicólogo Gene Glass num artigo da revista *Educational Research*. A meta-análise despertou o interesse de investigadores na área da medicina e começou a ser usado em pesquisa de ensaios clínicos aleatórios. Na década de 80 surgem algumas publicações importantes, em particular nas áreas das doenças cardiovasculares (Yusuf, 1985), oncologia (EBCTCG¹, 1988) e cuidados perinatais (Chalmers, 1989) [5, 6].

Mais recentemente, em 1992, foi fundado o Centro *Cochrane* do Reino Unido, dando início à Colaboração *Cochrane* (*Cochrane Collaboration*), uma rede de clínicos, epidemiologistas e outros profissionais de saúde, dedicada à facilitação e disseminação de revisões sistemáticas. Nesse mesmo ano surgiram as duas primeiras teses de doutoramento que consistiam em revisões sistemáticas com meta-análises, uma na Inglaterra (Jadad, 1994) e outra no Brasil (Mari, 1994) [6].

Desde a sua fundação a Colaboração *Cochrane* tem vindo a crescer rapidamente, com a criação de mais 15 centros na Europa, Norte e América Latina, África e Austrália e com centenas de pessoas de todo o mundo a colaborar em grupos de revisão.

¹ Early Breast Cancer Trialists' Collaborative Group

1.2. Princípios e procedimentos de meta-análise

Como qualquer outra pesquisa o desenvolvimento de uma meta-análise, num contexto de revisão sistemática, requer um planeamento cuidadoso, passando pela formulação da questão de pesquisa, pela recolha e análise de dados e pela interpretação e apresentação dos resultados. Antecipadamente deve ser efetuado um protocolo detalhado da pesquisa definindo claramente os objetivos, as hipóteses a testar, os subgrupos de interesse e os métodos e critérios propostos para identificar os estudos relevantes e extrair e analisar as informações [7, 8].

Após a formulação da questão de investigação, um dos primeiros passos a realizar é a pesquisa de estudos. Para tal, devem ser delineados critérios bem definidos, quer para a pesquisa, quer para seleção de estudos a incluir ou excluir na análise. Os investigadores devem, por exemplo, decidir se a pesquisa de estudos deve ou não ser alargada de forma a incluir estudos não publicados, uma vez que os resultados destes estudos podem ser diferentes dos estudos publicados [7]. A não inclusão deste tipo de estudos, como será referido mais adiante, poderá dar origem a viés de publicação.

Na pesquisa de estudos para a revisão sistemática e meta-análise, podem ser usadas diversas fontes, como bases de dados eletrónicas. Por exemplo, as bases de dados EMBASE da Elsevier e MEDLINE da Biblioteca Nacional de Medicina dos Estados Unidos da América contêm citações de artigos médicos publicados em diversas revistas de várias especialidades por todo o mundo. Por sua vez, o motor de busca livre PubMed fornece acesso gratuito a referências da MEDLINE e, quando possível, *links* para acesso a revistas e livros *online*. A Colaboração *Cochrane*, já referida acima, tem também uma das maiores fontes de pesquisa eletrónica de ensaios clínicos, o Registo *Cochrane* de Ensaios Clínicos Controlados (*The Cochrane Controlled Trials Register – CCTR*). O CCTR contém registos bibliográficos retirados das principais bases de dados (MEDLINE e EMBASE) mas também de outras fontes publicadas e não publicadas. Finalmente, existem outros recursos que podem ser importantes para os investigadores: dissertações, estudos de companhias farmacêuticas, estudos não publicados, através de contacto direto com autores e especialistas na área, consulta de listas de referências ou pesquisa manual de revistas da especialidade [8, 9].

Uma vez encontrados os artigos que abordam a questão de pesquisa é importante selecionar os artigos a incluir na meta-análise. Para isso podem ser definidos alguns critérios de inclusão (ou critérios de elegibilidade), como por exemplo, o desenho do estudo, metodologias aplicadas, o ano do estudo, a informação incluída, a língua em que está escrito o artigo, o tamanho da amostra, o tipo de estudo, entre outros [9]. A decisão de incluir ou excluir cada um dos estudos pode, por vezes, ser um pouco subjetiva, pelo que pode ser útil a elegibilidade dos estudos ser feita por mais do que um investigador [8]. Ao longo deste processo deve ser feito um registo dos estudos excluídos e as razões da sua exclusão.

Após a fase de seleção de estudos segue-se a extração de dados relevantes de cada estudo e, possivelmente, uma avaliação da qualidade dos estudos incluídos. Essa avaliação, embora seja recomendada, é uma questão em debate, uma vez que existem várias escalas de avaliação diferentes e listas de verificação [8] e, portando, essa avaliação pode estar sujeita a um elevado grau de subjetividade.

No que concerne à extração de dados, este pode ser um processo moroso durante o qual podem ocorrer vários erros, tais como, na leitura de dados, na interpretação de tabelas ou gráficos ou no registo dos dados. De forma a minimizar a ocorrência deste tipo de erros é importante que a extração de dados seja feita por dois ou mais investigadores independentes. Para além disso, poderá ser útil a elaboração cuidadosa de um formulário ou quadro de registo padronizado, para que a extração seja feita de forma concisa e organizada.

Após a extração e organização dos dados dos estudos é necessário decidir qual ou quais as medidas de efeito que podem ser calculadas tendo em conta o tipo de dados disponíveis e a respetiva escala de medida. Posteriormente, no capítulo 2, serão abordadas algumas das medidas de efeito utilizadas em meta-análise e formas de as calcular.

Depois de escolher a medida de efeito mais apropriada e de a calcular para cada estudo, segue-se o principal passo da meta-análise, que consiste em determinar a medida de efeito global combinando as medidas de efeito dos estudos individuais. Combinar as medidas de efeito através de uma média aritmética simples poderia dar origem a resultados pouco precisos, uma vez que os resultados de estudos com amostras mais pequenas estão mais sujeitos a erros de amostragem e devem, portanto, ter menos peso no resultado final do que estudos com amostras maiores. Os métodos aplicados na meta-análise para combinar os resultados dos vários estudos usam uma média ponderada, atribuindo, geralmente, maior ponderação a estudos maiores e menor peso a estudos com amostras mais pequenas. A forma como as ponderações são atribuídas a cada estudo depende do modelo e do método de meta-análise aplicado. Os modelos mais utilizados em meta-análise são o modelo de efeito fixo e o modelo de efeitos aleatórios. O primeiro assume que os estudos são similares entre si e que as diferenças se devem apenas a erros de amostragem, enquanto que o modelo de efeitos aleatórios pressupõe que para além da variação de amostragem existe variabilidade entre os estudos, ou seja os estudos são heterogêneos entre si. Com base nestes modelos de meta-análise existem diferentes métodos para obter uma estimativa para o efeito global e para o seu intervalo de confiança. No capítulo 3 serão apresentados alguns desses métodos, assim como, a forma que cada um utiliza para atribuir as ponderações a cada estudo e estimar o efeito global e o seu intervalo de confiança.

Depois de combinar as medidas de efeito de cada estudo, obtendo uma medida de efeito global os dados da meta-análise podem ser sintetizados graficamente através de um *forest plot*, uma forma de apresentação desenvolvida nos anos 80 pelo grupo de Richard Peto [8]. O *forest plot* apresenta as estimativas das medidas de efeito de cada estudo e a estimativa da medida de efeito global, sendo cada uma acompanhada do respetivo intervalo de confiança. Na Figura 1.2 podem-se observar exemplos ilustrativos de dois *forest plots*.

Num *forest plot* cada estudo é representado por uma linha com um quadrado, o quadrado representa a estimativa pontual e a linha o intervalo de confiança. O tamanho do quadrado é proporcional ao peso relativo de cada estudo no resultado final da meta-análise e o comprimento da linha é proporcional à precisão da estimativa. No lado esquerdo dessa linha está a identificação do estudo. O losango representa o resultado final da meta-análise, sendo que, o centro do losango simboliza a estimativa pontual para o efeito global e os extremos equivalem aos limites do intervalo de confiança para esse efeito. Nos estudos em que a medida de efeito reporta uma associação ou comparação a linha central vertical representa o efeito nulo ou a ausência de efeito.

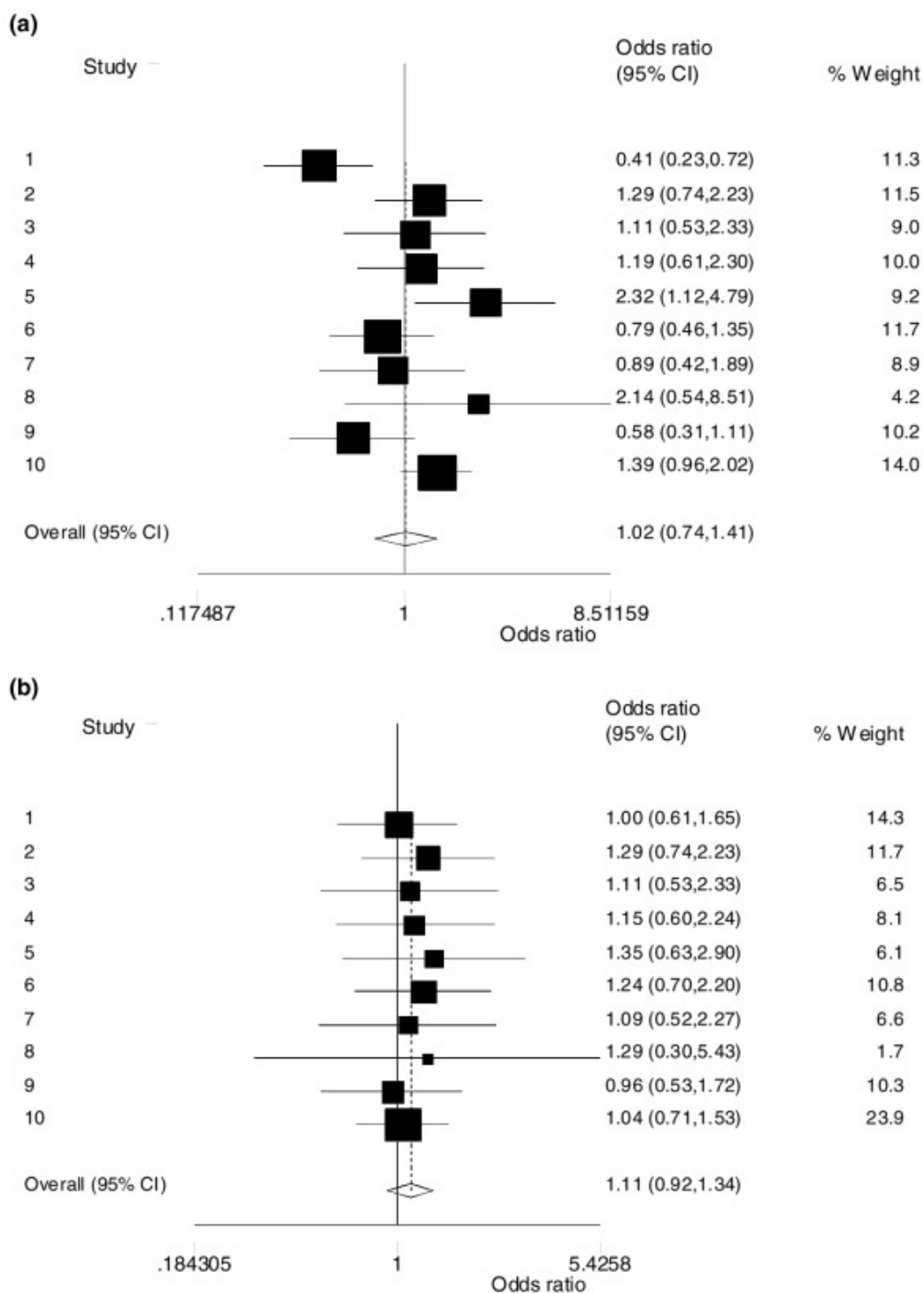


Figura 1.2 – Ilustrações de *forest plots* de odds ratios. Fonte: Reade (2008) [10].

A observação do *forest plot* pode fornecer alguma informação sobre a existência ou não de heterogeneidade entre os estudos. Na figura 1.2 (b) os estudos podem considerar-se homogêneos, pois os intervalos de confiança sobrepõem-se substancialmente e os valores da medida de efeito (*odds ratio* – ver secção 2.1.3) variam entre um *odds ratio* de 0,96 e 1,35. Já na figura 1.2 (a) os

estudos são bastante heterogêneos, alguns intervalos de confiança não se sobrepõem e verifica-se uma maior variação das medidas de efeito observadas, neste caso os *odds ratios* assumem valores entre 0,41 e 2,32. O resultado do estudo 1, por exemplo, não é consistente com os resultados dos estudos 5 e 10, pois não há interseção dos seus intervalos de confiança.

A avaliação da heterogeneidade entre os estudos é um aspeto importante a ter em conta na meta-análise, nomeadamente na escolha do modelo mais apropriado a aplicar. Uma estimativa da variância entre estudos, $\hat{\tau}^2$, pode ser indicativa da existência ou não de heterogeneidade entre os estudos, mas existem testes de heterogeneidade que avaliam se a heterogeneidade é significativa, ou seja, se os resultados dos estudos são suscetíveis de refletir um único efeito subjacente, ou uma distribuição de efeitos diferentes entre si. Se estes testes não concluírem uma heterogeneidade significativa, então, tipicamente, presume-se que as diferenças observadas entre os estudos são uma consequência da variação da amostragem, simplesmente devido ao acaso [8].

O teste mais usado para avaliação da heterogeneidade é o teste Q de *Cochran*, também designado por teste do χ^2 . Infelizmente, o poder deste teste é relativamente baixo quando há poucos estudos, e poderá ser excessivo quando a meta-análise inclui muitos estudos. Uma abordagem mais recente é o cálculo da estatística I^2 , que quantifica a percentagem de variação total entre os estudos que é devida à heterogeneidade, e não ao acaso [10]. Algumas representações gráficas, além do já referido *forest plot*, podem ser particularmente úteis para detetar e investigar a heterogeneidade. Gráficos como o diagrama de *Galbraith* (ou *radial plot*) ou o gráfico de *L'Abbé* serão referidos no capítulo 4, onde o tema da heterogeneidade será mais desenvolvido.

Um outro aspeto importante e que pode comprometer a validade de uma meta-análise é o facto de um determinado tipo de estudos ser sistematicamente excluído de publicação e, no caso de a meta-análise incluir apenas estudos publicados, esse poderá ser um fator de enviesamento dos resultados. Este enviesamento é conhecido na meta-análise por viés de publicação e resulta da tendência de autores e editores publicarem mais frequentemente estudos com resultados positivos do que estudos com resultados negativos [11]. Por exemplo, pode haver algum interesse económico em ocultar estudos que revelem resultados negativos. Uma forma de reduzir a possibilidade de viés de publicação é alargar o máximo possível as fontes de pesquisa de estudos. No entanto, esta questão não é fácil de resolver, pois não é possível saber quantos estudos não são reportados. O gráfico de funil (*funnel plot*), o teste de *Begg*, o teste de *Egger* ou o método *trim and fill* são alguns métodos que podem ser usados na deteção e correção de viés de publicação. Não obstante, estes são controversos porque podem ter baixa potência para a deteção de viés, principalmente com poucos estudos, ou podem criar falsos resultados positivos em algumas circunstâncias [12].

Pelo que já foi mencionado acima, a realização de uma meta-análise envolve uma sequência de decisões que, por vezes, não são claramente objetivas. A definição dos critérios de inclusão, a escolha do modelo a aplicar, ou a inclusão ou não de artigos não publicados são decisões que podem gerar opiniões divergentes ou alguma discordância entre os investigadores. Nesse caso, é desejável provar que os resultados da meta-análise não dependem significativamente dessas decisões. Para tal, poderá ser realizada uma análise de sensibilidade. Esta análise consiste na repetição da meta-análise, substituindo as decisões pouco objetivas por decisões alternativas. Por

exemplo, se a inclusão de alguns estudos causa dúvidas, por não terem detalhes completos, a análise de sensibilidade pode levar à realização da meta-análise duas vezes, primeiro, incluindo todos os estudos e depois, incluindo apenas os que não levantam dúvidas sobre a sua inclusão [13]. Uma análise de sensibilidade tem por objetivo verificar se as conclusões da meta-análise são robustas às decisões tomadas ao longo do processo.

Como em qualquer análise estatística, também numa meta-análise é necessário proceder a uma discussão e interpretação dos resultados obtidos, considerando, por exemplo, possíveis limitações, a sua aplicabilidade ou implicações para investigações futuras.

Os principais passos e procedimentos a ter em conta no desenvolvimento de uma meta-análise num contexto de revisão sistemática encontram-se resumidos na Tabela 1.1.

Tabela 1.1 – Procedimentos para o desenvolvimento de uma meta-análise.

1.	Formular a questão de pesquisa.
2.	Pesquisar em várias fontes os estudos sobre a questão.
3.	Aplicar critérios de inclusão e de exclusão para seleção dos estudos a incluir e, possivelmente, avaliar da sua qualidade.
4.	Extrair e organizar os dados dos estudos de forma clara e concisa.
5.	Analisar os dados e apresentar os resultados: <ul style="list-style-type: none">• Definir a medida de efeito a utilizar e determiná-la para cada estudo;• Avaliar a heterogeneidade entre os estudos;• Combinar os resultados dos estudos obtendo uma estimativa para o efeito global;• Opcionalmente, avaliar a presença de viés de publicação e/ou realizar uma análise de sensibilidade.
6.	Discutir e interpretar os resultados.

Nos capítulos que se seguem serão abordados com mais profundidade alguns dos principais conceitos a ter em conta no desenvolvimento de uma meta-análise, nomeadamente, algumas das medidas de efeito mais usuais, os principais modelos de meta-análise e formas de avaliação da heterogeneidade.

No capítulo 5, alguns dos procedimentos acima referidos serão aplicados no desenvolvimento de uma meta-análise que tem como objetivo avaliar a evolução da MIC (concentração mínima inibitória) de vancomicina em infeções por *methicillin-resistant Staphylococcus aureus* (MRSA), e a existência de tendência ao longo do tempo.

2. Medidas de efeito

A medida de efeito pode ser considerada o coração e a alma da meta-análise [14]. Representa a medida meta-analítica ou a variável dependente da meta-análise. A medida de efeito numa meta-análise pode, por exemplo, referir-se a um efeito de tratamento ou impacto de uma intervenção, pode quantificar a relação entre duas variáveis ou a diferença entre dois grupos [4], ou pode referir-se simplesmente à estimativa de um único valor como a média ou a prevalência de um acontecimento ou doença.

Para diferentes questões de pesquisa existem diferentes tipos de medidas de efeito e para cada tipo podem existir várias formas para calcular o efeito global.

Existem quatro considerações importantes a ter em conta na escolha da medida de efeito a utilizar, a saber: deve ser comparável de uns estudos para os outros, deve ser interpretável, deve poder ser calculada diretamente da informação reportada nos estudos, sem necessidade de reanálise dos dados originais, e, por último, deve ter boas propriedades técnicas, por exemplo, a distribuição amostral deve ser conhecida para que se possam calcular variâncias e intervalos de confiança [3].

Existem diversas medidas de efeito usadas em meta-análise. No presente trabalho serão abordadas o risco relativo (RR), o *odds ratio* (OR), a diferença de riscos (DR) e a proporção de prevalência (p) para dados binários e a média, a diferença de médias (DM), a diferença de médias padronizada (DMP) e o coeficiente de correlação para dados contínuos. Os métodos utilizados para calcular a medida de efeito global a partir das medidas de efeito dos estudos serão abordados apenas no capítulo seguinte.

2.1. Medidas de efeito para dados binários

Sobretudo na área da saúde são frequentemente realizadas meta-análises que combinam resultados de estudos sobre efeitos de diferentes medicamentos, tratamentos ou procedimentos ou sobre os efeitos de exposição a um certo fator de risco. Os resultados destes estudos são caracterizados pela presença ou ausência de determinada característica ou evento. São, por isso, designados por dados dicotómicos ou binários. Para análise deste tipo de dados os resultados de um estudo podem ser organizados numa tabela de contingência (2x2) como a Tabela 2.1 e assim calcular, por exemplo, associações, proporções ou razões e comparar resultados de grupos diferentes.

Tabela 2.1 – Tabela de contingência (2x2) de eventos por tratamento.

	Evento	Não evento	
Tratamento (Exposto)	a	b	n_T
Controlo (Não exposto)	c	d	n_C
	n_E	n_{NE}	N_i

Nota: por simplificação de notação, optou-se por usar letras minúsculas (a, b, c, d) para representar as variáveis aleatórias correspondentes às observações.

2.1.1 Risco Relativo

O conceito de risco representa, sobretudo na área da saúde, a probabilidade de ocorrência de um evento (geralmente um evento adverso), ou seja o quociente entre o número de indivíduos de um grupo com evento e o número total de indivíduos desse grupo [13]. O risco relativo permite comparar o risco de ocorrência do evento num grupo (tratamento ou expostos) com o risco de ocorrência desse mesmo evento noutro grupo (controlo ou não expostos). Assim, designamos por risco relativo a razão entre o risco de evento no grupo de tratamento e o risco de evento no grupo de controlo. O risco relativo é usado sobretudo em estudos de corte (ensaios clínicos) para investigar a magnitude de associação entre um fator de risco (tratamento) e a ocorrência de evento.

Em cada estudo, i , o risco relativo pode ser estimado por

$$\widehat{RR}_i = \frac{a/n_T}{c/n_C} = \frac{a n_C}{c n_T} . \quad (2.1)$$

Para determinar um intervalo de confiança para \widehat{RR}_i aplica-se a transformação logarítmica obtendo-se uma distribuição aproximadamente normal e, através do método delta, obtém-se uma estimativa para a variância:

Considere-se uma variável aleatória, X . Usando os dois primeiros termos do desenvolvimento em série de *Taylor* em torno da média, μ_X , obtém-se uma aproximação para $\ln(X)$,

$$\ln(X) \approx \ln(\mu_X) + \frac{1}{\mu_X}(X - \mu_X) , \quad (2.2)$$

de onde vem,

$$Var[\ln(X)] \approx \left(\frac{1}{\mu_X} \right)^2 \times Var(X - \mu_X) \approx \frac{1}{\mu_X^2} \times \sigma_X^2 = \frac{\sigma_X^2}{\mu_X^2} \quad (2.3)$$

sendo σ_X^2 a variância de X . Um estimador para a variância pelo método delta é obtido quando se usam em (2.3) estimadores para μ_X e para σ_X^2 .

De (2.1) vem que

$$\ln(\widehat{RR}_i) = \ln(a) + \ln(n_c) - \ln(c) - \ln(n_T) \quad (2.4)$$

e

$$Var[\ln(\widehat{RR}_i)] = Var[\ln(a)] + Var[\ln(n_c)] + Var[\ln(c)] + Var[\ln(n_T)] . \quad (2.5)$$

Pressupondo-se que as observações seguem uma distribuição binomial de probabilidade constante, ou seja $a \sim B(n_T, \pi_T)$ e $c \sim B(n_C, \pi_C)$ temos que $\sigma_a^2 = n_T \pi_T (1 - \pi_T)$, $\sigma_c^2 = n_C \pi_C (1 - \pi_C)$, $\mu_a = n_T \pi_T$ e $\mu_c = n_C \pi_C$. De (2.3) e (2.5) obtém-se

$$\begin{aligned} Var[\ln(\widehat{RR}_i)] &= \frac{n_T \pi_T (1 - \pi_T)}{(n_T \pi_T)^2} + 0 + \frac{n_C \pi_C (1 - \pi_C)}{(n_C \pi_C)^2} + 0 \\ &= \frac{1 - \pi_T}{n_T \pi_T} + \frac{1 - \pi_C}{n_C \pi_C} \\ &= \frac{1}{n_T \pi_T} - \frac{1}{n_T} + \frac{1}{n_C \pi_C} - \frac{1}{n_C} . \end{aligned} \quad (2.6)$$

Sendo $p_T = a/n_T$ e $p_C = c/n_C$ estimadores de máxima verosimilhança da probabilidade de evento no grupo de tratamento e no grupo de controlo, respetivamente, um estimador para a variância do risco relativo é dado por

$$S_{\ln(\widehat{RR}_i)}^2 = \frac{1}{a} - \frac{1}{n_T} + \frac{1}{c} - \frac{1}{n_C} . \quad (2.7)$$

Os limites do intervalo de confiança a $(1 - \alpha) \times 100\%$ para $\ln(RR_i)$ podem ser dados por

$$LI_{\ln(RR_i)} = \ln(\widehat{RR}_i) - z_{1-\alpha/2} \times S_{\ln(\widehat{RR}_i)} \quad \text{e} \quad LS_{\ln(RR_i)} = \ln(\widehat{RR}_i) + z_{1-\alpha/2} \times S_{\ln(\widehat{RR}_i)} , \quad (2.8)$$

onde $z_{1-\alpha/2}$ é o quantil de probabilidade $1 - \alpha/2$ da distribuição normal padrão e $S = \sqrt{S^2}$.

Note-se que, na meta-análise a variância do efeito global, \widehat{RR} , e os limites do intervalo de confiança são calculados em unidades logarítmicas (ver capítulo 3). Depois, converte-se cada um destes valores novamente às unidades originais [4], obtendo-se

$$LI_{RR} = e^{LI_{\ln(RR)}} \quad \text{e} \quad LS_{RR} = e^{LS_{\ln(RR)}} . \quad (2.9)$$

2.1.2 Diferença de Riscos

A diferença de riscos (também designada por redução absoluta de risco) representa a diferença entre o risco de evento no grupo de tratamento e o risco de evento no grupo de controlo. Ao contrário do que acontece no RR, os cálculos sobre a diferença de riscos são feitos nas unidades originais e não em unidades logarítmicas [4]. Desta forma, para cada estudo i , a diferença de riscos estima-se por

$$\widehat{DR}_i = \frac{a}{n_T} - \frac{c}{n_C} . \quad (2.10)$$

Para obter uma estimativa para a sua variância pressupõe-se, tal como no risco relativo, que as observações seguem uma distribuição binomial. Obtém-se assim:

$$\begin{aligned} Var[\widehat{DR}_i] &= \frac{1}{n_T^2} \cdot \sigma_a^2 + \frac{1}{n_C^2} \cdot \sigma_c^2 \\ &= \frac{n_T \pi_T (1 - \pi_T)}{n_T^2} + \frac{n_C \pi_C (1 - \pi_C)}{n_C^2} . \end{aligned} \quad (2.11)$$

Usando os estimadores de máxima verosimilhança para π_T e π_C obtém-se um estimador para a variância da diferença de riscos,

$$\begin{aligned} S_{\widehat{DR}_i}^2 &= \frac{1}{n_T} \cdot \frac{a}{n_T} \cdot \frac{b}{n_T} + \frac{1}{n_C} \cdot \frac{c}{n_C} \cdot \frac{d}{n_C} \\ &= \frac{ab}{n_T^3} + \frac{cd}{n_C^3} . \end{aligned} \quad (2.12)$$

Os limites para o intervalo de confiança a $(1 - \alpha) \times 100\%$ são estimados por

$$LI_{DR_i} = \widehat{DR}_i - z_{1-\alpha/2} \times S_{\widehat{DR}} \quad \text{e} \quad LS_{DR_i} = \widehat{DR}_i + z_{1-\alpha/2} \times S_{\widehat{DR}} . \quad (2.13)$$

2.1.3 Odds Ratio

Uma chance (*odds*) refere-se à probabilidade de ocorrência de um evento comparada à probabilidade de não ocorrência desse evento. O *odds ratio* é a razão de duas chances. Nos estudos de corte o *odds ratio* corresponde à razão entre a chance de ocorrência de um evento num grupo (expostos) e a chance de ocorrência desse evento noutro grupo (não expostos) [15].

Assim, tendo em conta a Tabela 2.1, o *odds ratio* de cada estudo i pode estimar-se por

$$\widehat{OR}_i = \frac{a/b}{c/d} = \frac{ad}{bc} . \quad (2.14)$$

Todavia, o *odds ratio* é mais utilizado em estudos de caso-controlo. Neste tipo de estudos são geralmente definidos um grupo de casos (com evento) e um grupo de controlos (sem evento) e avalia-se a exposição (no passado) a potenciais fatores de risco nestes grupos. Deste modo, neste tipo de estudos o *odds ratio* representa a razão entre a chance de exposição nos casos e a chance de exposição nos controlos. Neste caso, o *odds ratio* de cada estudo i pode estimar-se por

$$\widehat{OR}_i = \frac{a/c}{b/d} = \frac{ad}{bc} . \quad (2.15)$$

O *odds ratio* pode ainda ser interpretado como uma medida de associação entre duas variáveis (exposição vs evento). Em qualquer dos casos, organizando os dados numa tabela de contingência (Tabela 2.1), o *odds ratio* é estimado pela razão entre os produtos dos cruzamentos:

$$\widehat{OR}_i = \frac{a d}{b c} . \quad (2.16)$$

À semelhança do que foi feito para o risco relativo pode estimar-se a variância do *odds ratio* aplicando a transformação logarítmica e o método delta:

De (2.16) pode escrever-se que

$$\ln(\widehat{OR}_i) = \ln(a) + \ln(d) - \ln(b) - \ln(c) \quad \text{e} \quad (2.17)$$

$$Var[\ln(\widehat{OR}_i)] = Var[\ln(a)] + Var[\ln(d)] + Var[\ln(b)] + Var[\ln(c)] . \quad (2.18)$$

Pressupõe-se, neste caso, que as observações (a, b, c, d) seguem uma distribuição multinomial de parâmetros N_i e $\pi = (\pi_a, \pi_b, \pi_c, \pi_d)$. Usando a aproximação da distribuição binomial à distribuição de *Poisson* considera-se que, para $X \in \{a, b, c, d\}$ se tem $\sigma_X^2 = \mu_X = N_i \pi_X$. Então, de (2.3) e (2.18) obtém-se,

$$Var[\ln(\widehat{OR}_i)] = \frac{N_i \pi_a}{(N_i \pi_a)^2} + \frac{N_i \pi_d}{(N_i \pi_d)^2} + \frac{N_i \pi_b}{(N_i \pi_b)^2} + \frac{N_i \pi_c}{(N_i \pi_c)^2} \quad (2.19)$$

e, aplicando estimadores de máxima verosimilhança para π_a, π_b, π_c e π_d , um estimador para a variância do *odds ratio* é dado por

$$S_{\widehat{OR}_i}^2 = \frac{1}{a} + \frac{1}{b} + \frac{1}{c} + \frac{1}{d} . \quad (2.20)$$

As estimativas para os limites do intervalo de confiança a $(1 - \alpha) \times 100\%$ podem ser dadas por

$$LI_{\ln(OR_i)} = \ln(\widehat{OR}_i) - z_{1-\alpha/2} \times S_{\ln(\widehat{OR}_i)} \quad \text{e} \quad LS_{\ln(OR_i)} = \ln(\widehat{OR}_i) + z_{1-\alpha/2} \times S_{\ln(\widehat{OR}_i)} . \quad (2.21)$$

À semelhança do que acontece com o risco relativo, o efeito global, a variância e o intervalo de confiança são calculados em unidades logarítmicas que, posteriormente, são convertidos nas unidades originais, obtendo-se

$$\widehat{OR} = e^{\ln(\widehat{OR})} \quad , \quad LI_{OR} = e^{LI_{\ln(\widehat{OR})}} \quad \text{e} \quad LS_{OR} = e^{LS_{\ln(\widehat{OR})}} . \quad (2.22)$$

2.1.4 Proporção de prevalência

Os estudos de prevalência são dos estudos mais publicados e difundidos em epidemiologia. A prevalência permite analisar a frequência de ocorrência de uma doença ou situação, numa população, num determinado momento temporal. Pode referir-se ao número total de casos ou à proporção de casos numa população, sendo preferível o uso de valores em proporção.

A proporção de prevalência é, então, calculada dividindo o número de indivíduos com evento (doença ou situação), num determinado espaço de tempo, pelo número total de indivíduos analisados. Desta forma, para cada estudo, i , a proporção de prevalência, π_i , é estimada por

$$\hat{p}_i = \frac{n_E}{N_i} . \quad (2.23)$$

Assumindo que as observações (neste caso o número de eventos, n_E) seguem uma distribuição binomial, um estimador para a variância da proporção de prevalência de cada estudo pode ser dada por

$$S_{p_i}^2 = \frac{p_i(1-p_i)}{N_i} . \quad (2.24)$$

As estimativas para os limites do intervalo de confiança a $(1 - \alpha) \times 100\%$ são dadas por

$$LI_{p_i} = \hat{p}_i - z_{1-\alpha/2} \times S_{\hat{p}_i} \quad \text{e} \quad LS_{p_i} = \hat{p}_i + z_{1-\alpha/2} \times S_{\hat{p}_i} . \quad (2.25)$$

Por vezes surgem problemas, por exemplo, com a variância, quando as proporções de prevalência são muito próximas de 0 ou de 1, ou quando os limites do intervalo de confiança se situam fora do intervalo $[0, 1]$. Nesses casos, os p_i podem ser transformados em variáveis com distribuição aproximadamente normal, sendo esse o procedimento mais comum. Nesse caso, a meta-análise é levada a cabo usando as variáveis transformadas, no final, o efeito global (e o respetivo intervalo de confiança) pode ser novamente transformado em proporção. Duas transformações que podem ser usadas, neste caso, são a transformação logit e a transformação duplo arco-seno.

Transformação logit

Para cada estudo, i , a transformação logit [16] do verdadeiro efeito, p_i , é dada por:

$$\text{logit}(p_i) = \ln\left(\frac{p_i}{1-p_i}\right) \quad (2.26)$$

e uma estimativa para $\text{logit}(p_i)$ pode ser obtida por

$$\widehat{\text{logit}}(p_i) = \text{logit}(\hat{p}_i) = \ln\left(\frac{\hat{p}_i}{1-\hat{p}_i}\right). \quad (2.27)$$

Aplicando o método delta é possível obter uma estimativa para a sua variância. Usando os dois primeiros termos do desenvolvimento em série de Taylor em torno de p_i obtém-se

$$\text{logit}(\hat{p}_i) \approx \text{logit}(p_i) + \frac{d(\text{logit}(p_i))}{dp_i} \cdot (\hat{p}_i - p_i) \quad (2.28)$$

e, portanto

$$\text{Var}[\text{logit}(\hat{p}_i)] \approx \left[\frac{d(\text{logit}(p_i))}{dp_i} \right]^2 \cdot \text{Var}(\hat{p}_i). \quad (2.29)$$

Usando (2.24) como estimativa para a variância de \hat{p}_i obtém-se uma estimativa para a variância de $\text{logit}(\hat{p}_i)$:

$$\begin{aligned} S^2_{\text{logit}(\hat{p}_i)} &= \left[\frac{1}{p_i(1-p_i)} \right]^2 \cdot \frac{\hat{p}_i(1-\hat{p}_i)}{N_i} \\ &\approx \frac{1}{N_i \hat{p}_i(1-\hat{p}_i)}, \end{aligned} \quad (2.30)$$

e para os limites do intervalo de confiança:

$$LI_{\text{logit}(p_i)} = \text{logit}(\hat{p}_i) - z_{1-\alpha/2} \times S_{\text{logit}(\hat{p}_i)} \quad \text{e} \quad LS_{\text{logit}(p_i)} = \text{logit}(\hat{p}_i) + z_{1-\alpha/2} \times S_{\text{logit}(\hat{p}_i)}. \quad (2.31)$$

Após levar a cabo a meta-análise e obter uma estimativa para o efeito global transformado, $\text{logit}(\hat{p})$, uma estimativa para o efeito global da proporção de prevalência, \hat{p} , é obtida pela transformação inversa

$$\hat{p} = \frac{e^{\text{logit}(\hat{p})}}{1 + e^{\text{logit}(\hat{p})}}. \quad (2.32)$$

A transformação logit resolve o problema de estimativas que se situam fora do intervalo $[0, 1]$, mas não soluciona o problema da variância [16].

Transformação duplo arco-seno

A transformação duplo arco-seno [16] para o efeito estimado de cada estudo, i , é dada por:

$$\hat{t}_i = \arcsin\left(\sqrt{\frac{n_E}{N_i + 1}}\right) + \arcsin\left(\sqrt{\frac{n_E + 1}{N_i + 1}}\right), \quad (2.33)$$

onde n_E é o número de indivíduos com evento e N a dimensão da população. Uma estimativa para a variância é obtida por

$$S_{t_i}^2 = \frac{1}{N_i + 0.5}. \quad (2.34)$$

Após a meta-análise e depois de obter uma estimativa para o efeito global transformado, \hat{t} , o efeito global estimado da proporção de prevalência, \hat{p} , é obtido pela transformação inversa

$$\hat{p} = \frac{1}{2} \cdot \left[1 - \operatorname{sgn}\left(\cos(\hat{t})\right) \cdot \sqrt{1 - \left[\sin(\hat{t}) + \frac{\sin(\hat{t}) - 1/\sin(\hat{t})}{N} \right]^2} \right], \text{ onde } N = \sum_i N_i. \quad (2.35)$$

Uma expressão alternativa para a transformação inversa, mais simples embora menos precisa é

$$\hat{p} = \left[\sin\left(\frac{\hat{t}}{2}\right) \right]^2. \quad (2.36)$$

A transformação duplo arco-seno resolve o problema dos intervalos de confiança fora dos limites do intervalo $[0, 1]$ e também da instabilidade da variância, sendo, por isso, preferível à transformação logit [16].

2.2. Medidas de efeito para dados contínuos

Quando os estudos reportam médias e desvios padrão as medidas de efeito mais utilizadas são a diferença de médias (DM) e a diferença de médias padronizada (DMP) [4]. Estas medidas são utilizadas quando se pretende a comparação entre grupos, por exemplo, grupos de tratamento e de controlo, ou antes e após um tratamento ou procedimento. No entanto, também se pode

efetuar meta-análise da média simples, sem que haja comparação entre diferentes grupos. Quando os estudos reportam a correlação entre duas variáveis o coeficiente de correlação serve, ele próprio de medida de efeito.

2.2.1 Média

Para cada estudo, i , considere-se μ_i a média da população e σ_i^2 a sua variância. Uma estimativa, $\hat{\mu}_i$, para a média é dada pela média amostral, \bar{X}_i ,

$$\hat{\mu}_i = \bar{X}_i , \quad (2.37)$$

e a variância é estimada por

$$S_{\hat{\mu}_i}^2 = \frac{S_i^2}{N_i} , \quad (2.38)$$

onde S_i^2 representa a variância amostral e N_i o tamanho da amostra.

Assumindo que N_i é suficientemente grande, pelo teorema limite central os limites do intervalo de confiança para a média são estimados por

$$LI_{\mu_i} = \hat{\mu}_i - z_{1-\alpha/2} \times S_i \quad \text{e} \quad LS_{\mu_i} = \hat{\mu}_i + z_{1-\alpha/2} \times S_i . \quad (2.39)$$

2.2.2 Diferença de médias

Considere-se um estudo, i , que reporta a média de dois grupos, por exemplo, tratamento e controlo. Sejam μ_T e μ_C as médias (populacionais) do grupo de tratamento e do grupo de controlo, respetivamente. Visando comparar as médias destes dois grupos, a diferença de médias populacional é definida por

$$\Delta_i = \mu_T - \mu_C . \quad (2.40)$$

Sendo \bar{X}_T e \bar{X}_C as médias amostrais do grupo de tratamento e do grupo de controlo, respetivamente, considerando os dois grupos independentes, Δ_i pode ser estimada pela diferença das médias amostrais,

$$D_i = \bar{X}_T - \bar{X}_C . \quad (2.41)$$

Assumindo que os dois grupos têm a mesma variância, $\sigma_T^2 = \sigma_C^2 = \sigma_i^2$, a variância para a diferença é dada por

$$Var[D_i] = \left(\frac{1}{n_T} + \frac{1}{n_C} \right) \cdot \sigma_i^2 . \quad (2.42)$$

onde o valor de σ_i^2 pode ser estimado pela variância amostral combinada:

$$S_i^2 = \frac{(n_T - 1)S_T^2 + (n_C - 1)S_C^2}{n_T + n_C - 2} . \quad (2.43)$$

Note-se que esta medida de efeito só pode ser utilizada quando todos os estudos na análise utilizam precisamente a mesma escala. No entanto, isso não é o mais comum em meta-análise por isso, a medida mais utilizada é a diferença de médias padronizada em vez da diferença de médias bruta.

2.2.3 Diferença de médias padronizada

A diferença de médias padronizada é usada, sobretudo quando a escala ou as unidades de medida são diferentes de estudo para estudo. Ao dividir a diferença de médias de cada estudo pelo seu desvio padrão, cria-se uma medida (DMP) que pode ser comparável entre estudos [4].

Considere-se um estudo, i , com dois grupos independentes, o grupo de tratamento e o grupo de controlo, por exemplo. Se assumirmos que o desvio padrão populacional dos dois grupos é o mesmo ($\sigma_T = \sigma_C = \sigma_i$), então, a diferença de médias padronizada populacional é definida por

$$\delta_i = \frac{\mu_T - \mu_C}{\sigma_i} . \quad (2.44)$$

A diferença de médias padronizada pode ser estimada para cada estudo usando as médias amostrais dos dois grupos, \bar{X}_T e \bar{X}_C e um desvio padrão combinado dos respetivos desvios padrão amostrais, S_T e S_C . Esse estimador é conhecido na literatura por d de *Cohen* e define-se por

$$d_i = \frac{\bar{X}_T - \bar{X}_C}{S_i} , \quad (2.45)$$

onde S_i é igual a

$$S_i = \sqrt{\frac{(n_T - 1)S_T^2 + (n_C - 1)S_C^2}{n_T + n_C - 2}} . \quad (2.46)$$

Uma boa aproximação para a variância de d é dada por

$$S_{d_i}^2 = \frac{n_T + n_C}{n_T n_C} + \frac{d^2}{2(n_T + n_C)} . \quad (2.47)$$

Nesta equação, o primeiro termo reflete a incerteza na estimativa da diferença de médias e o segundo termo reflete a incerteza na estimativa do desvio padrão, S_i [4].

As estimativas para os limites do intervalo de confiança a $(1 - \alpha) \times 100\%$ são dadas por

$$LI_{\delta_i} = d_i - z_{1-\alpha/2} \times S_{d_i} \quad \text{e} \quad LS_{\delta_i} = d_i + z_{1-\alpha/2} \times S_{d_i} . \quad (2.48)$$

O estimador d de *Cohen* para a diferença de médias padronizada é um estimador enviesado, tendendo a sobrestimar o valor de δ , sobretudo para amostras pequenas. Para corrigir este viés pode ser aplicado um fator de correção, J , dando origem a um estimador não enviesado, designado por g de *Hedges*. Hedges (1981) propôs uma fórmula exata para determinação de J , mas, habitualmente, é usada uma aproximação que, no caso de grupos independentes, é dada por

$$J = 1 - \frac{3}{4(n_T + n_C - 2) - 1} . \quad (2.49)$$

Assim, o estimador g de Hedges para δ é dado por

$$g_i = J \times d_i , \quad (2.50)$$

e a sua variância é estimada por

$$S_{g_i}^2 = J^2 \times S_{d_i}^2 . \quad (2.51)$$

Note-se que também é possível determinar estimativas para a diferença de médias e para a diferença de médias padronizada no caso de grupos não independentes, como grupos emparelhados, por exemplo, todavia, essas situações não foram aqui desenvolvidas.

2.2.4 Correlação

Quando os estudos reportam a correlação entre duas variáveis contínuas, o coeficiente de correlação de *Pearson*, ρ , pode ser utilizado como medida de efeito. Uma estimativa para o coeficiente de correlação de cada estudo i é dada, simplesmente, pelo coeficiente de correlação amostral, r_i ,

$$\hat{\rho}_i = r_i \quad (2.52)$$

e, sendo N_i a dimensão da amostra, uma estimativa para a variância de r_i é dada por [4]

$$S_{r_i}^2 = \frac{(1 - r^2)^2}{N_i - 1} . \quad (2.53)$$

Para efeitos de meta-análise o coeficiente de correlação, r_i , é frequentemente convertido para a escala z de *Fisher*. Essa transformação é dada por

$$z_i = 0.5 \times \ln \left(\frac{1 + r}{1 - r} \right) . \quad (2.54)$$

Uma boa aproximação para a variância é [4]

$$S_{z_i}^2 = \frac{1}{n-3} . \quad (2.55)$$

Os limites para o intervalo de confiança de z_i podem ser estimados por:

$$LI_{z_i} = z_i - z_{1-\alpha/2} \times S_{z_i} \quad \text{e} \quad LS_{z_i} = z_i + z_{1-\alpha/2} \times S_{z_i} . \quad (2.56)$$

Através da meta-análise determina-se o efeito global e os limites do respetivo intervalo de confiança na escala z de *Fisher*. Depois convertem-se novamente estes valores para as unidades originais, usando a transformação inversa

$$r = \frac{e^{2z} - 1}{e^{2z} + 1} . \quad (2.57)$$

3. Modelos de meta-análise

Como já foi visto, um dos objetivos de uma meta-análise é combinar as medidas de efeito dos vários estudos, obtendo um efeito global estimado.

Se todos os estudos em análise fossem igualmente precisos poder-se-ia, simplesmente, calcular a média das medidas de efeito dos estudos. No entanto, se alguns estudos forem mais precisos do que outros, deve-se atribuir mais peso aos estudos com mais informação. É este o procedimento usado numa meta-análise. Em vez de calcular uma média simples das medidas de efeito calcula-se uma média ponderada, dando mais peso a alguns estudos e menos peso a outros [17].

A questão que se coloca é, então, como atribuir os pesos. É aqui que reside a diferença entre os modelos de meta-análise.

Os modelos mais usados em meta-análise são o modelo de efeito fixo e o modelo de efeitos aleatórios. Os dois fazem suposições diferentes sobre a natureza dos estudos, e estes pressupostos levam a definições diferentes para o efeito combinado, e diferentes mecanismos de atribuição de pesos [17].

No modelo de efeito fixo assume-se que os estudos são similares, ou seja, o efeito é comum a todos os estudos da análise (daí o termo efeito fixo, no singular) e que as diferenças nos efeitos observados se devem apenas a erros de amostragem. Um termo mais adequado a este modelo poderia ser *modelo de efeito comum* [4]. Neste modelo a ponderação atribuída a cada estudo tem em conta apenas a variância desse estudo. No modelo de efeitos aleatórios considera-se que o efeito varia de estudo para estudo, por exemplo, devido a diferenças nos métodos usados em cada estudo ou nas características das amostras incluídas, portanto, essa variabilidade entre estudos deve ser considerada na atribuição de pesos a cada estudo.

Neste capítulo será feita uma breve descrição destes modelos de meta-análise e de alguns métodos usados em cada um para estimar o efeito global e o seu intervalo de confiança.

3.1. Modelo de efeito fixo

No modelo de efeito fixo, como já foi referido, considera-se que o verdadeiro efeito é o mesmo em todos os estudos, ou seja, os fatores que o influenciam são comuns a todos os estudos. Neste modelo pode assumir-se que todos os estudos fazem parte de uma população e, portanto, os efeitos estimados podem ser considerados como parte da mesma distribuição. Desta forma, o efeito observado em cada estudo difere dos restantes apenas devido a erros de amostragem associados a esse estudo, ou seja, a variabilidade intra-estudo.

Considere-se uma meta-análise composta por k estudos independentes e $\hat{\theta}_i$ o efeito observado no estudo i (com $i = 1, 2, \dots, k$). Pelo modelo de efeito fixo tem-se que,

$$\hat{\theta}_i = \theta + \varepsilon_i, \quad (3.1)$$

sendo θ o verdadeiro efeito, comum a todos os estudos, e ε_i o erro de amostragem associado ao estudo i (Figura 3.1).

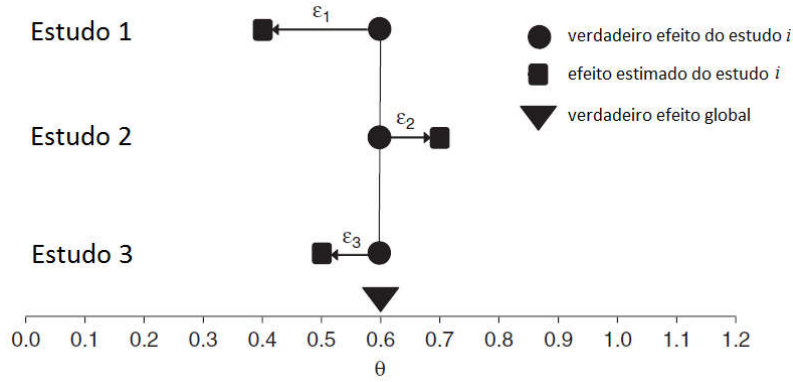


Figura 3.1 – Ilustração do modelo de efeito fixo – verdadeiro efeito e erro de amostragem em cada estudo. Figura adaptada de Borenstein (2008) [4].

Este modelo pressupõe que

$$\varepsilon_i \sim N(0, \sigma_i^2), \quad (3.2)$$

ou seja, os erros têm distribuição normal com média 0 e variância σ_i^2 , onde σ_i^2 é a variância de cada estudo. Esta variância, normalmente, é desconhecida, mas pode ser estimada pelos dados do estudo [18], obtendo-se uma variância estimada, S_i^2 . Assim, pode considerar-se que

$$\hat{\theta}_i \sim N(\theta, S_i^2). \quad (3.3)$$

Segundo este modelo o efeito global pode ser estimado combinando os efeitos observados de cada estudo, através de uma média ponderada. A ponderação a atribuir a cada estudo pode ser determinada usando diferentes métodos, dependendo da medida de efeito que se pretende estimar e do tipo de estudos que compõem a meta-análise.

É de notar que o efeito global obtido por meta-análise, por vezes, não é uma medida de efeito, mas sim uma medida transformada, sendo necessário, após a meta-análise, aplicar a transformação inversa para obter a medida de efeito global nas suas unidades originais.

3.1.1 Método da variância inversa

Um dos métodos mais usuais é o método da variância inversa, também conhecido por método da máxima verosimilhança. Neste método, o peso atribuído a cada estudo, w_i , é o inverso da variância desse estudo,

$$w_i = \frac{1}{S_i^2} . \quad (3.4)$$

Neste caso, a função de máxima verosimilhança é dada por

$$L(\hat{\theta}_1, \dots, \hat{\theta}_k, \theta) = \prod_{i=1}^k \left(2\pi \cdot \frac{1}{w_i} \right)^{-1/2} \cdot \exp \left(-\frac{1}{2} \frac{(\hat{\theta}_i - \theta)^2}{1/w_i} \right) , \quad (3.5)$$

e o logaritmo de $L(\hat{\theta}_1, \dots, \hat{\theta}_k, \theta)$ é dado por

$$\ln L(\hat{\theta}_1, \dots, \hat{\theta}_k, \theta) = -\frac{1}{2} \times \left[\sum_{i=1}^k \ln \left(\frac{2\pi}{w_i} \right) + \sum_{i=1}^k w_i (\hat{\theta}_i - \theta)^2 \right] . \quad (3.6)$$

Derivando esta expressão em ordem a θ e igualando o resultado a zero obtém-se o estimador de máxima verosimilhança para θ ,

$$\hat{\theta}_{MV} = \frac{\sum_{i=1}^k (w_i \times \hat{\theta}_i)}{\sum_{i=1}^k w_i} . \quad (3.7)$$

A sua variância é dada por:

$$Var[\hat{\theta}_{MV}] = Var \left[\frac{\sum_{i=1}^k (w_i \hat{\theta}_i)}{\sum_{i=1}^k w_i} \right] = \frac{\sum_{i=1}^k (w_i^2 Var[\hat{\theta}_i])}{\left(\sum_{i=1}^k w_i \right)^2} . \quad (3.8)$$

De (3.8) e (3.4) obtém-se a variância estimada para o efeito global

$$S_{\hat{\theta}_{MV}}^2 = \frac{\sum_{i=1}^k \left(w_i^2 \cdot \frac{1}{w_i} \right)}{\left(\sum_{i=1}^k w_i \right)^2} = \frac{\sum_{i=1}^k w_i}{\left(\sum_{i=1}^k w_i \right)^2} = \frac{1}{\sum_{i=1}^k w_i} . \quad (3.9)$$

Então, a variância do efeito global é estimada pelo inverso da soma dos pesos atribuídos,

$$S_{\hat{\theta}_{MV}}^2 = \frac{1}{\sum_{i=1}^k w_i} . \quad (3.10)$$

Os limites do intervalo de confiança a $(1 - \alpha) \times 100\%$ para θ_{MV} podem ser dados por

$$LI_{\theta_{MV}} = \hat{\theta}_{MV} - z_{1-\alpha/2} \times S_{\hat{\theta}_{MV}} \quad \text{e} \quad LS_{\theta_{MV}} = \hat{\theta}_{MV} + z_{1-\alpha/2} \times S_{\hat{\theta}_{MV}} . \quad (3.11)$$

3.1.2 Método de Mantel-Haenszel

Se a medida do efeito é proveniente de dados binários (OR, RR ou DR) a estimativa de θ pode ser calculada usando o método de *Mantel-Haenszel*. A diferença deste método de estimação é o cálculo da ponderação de cada estudo [19].

Quando os estudos envolvidos apresentam amostras pequenas e/ou baixas taxas de evento estimadas nos grupos, o método da variância inversa pode tornar-se pouco adequado, uma vez que, em amostras pequenas, a estimativa usada para a variância pode não ser uma boa aproximação da verdadeira variância.

Os estimadores de *Mantel-Haenszel* apresentam normalmente uma maior variação do que os estimadores de máxima verosimilhança, no entanto, têm a vantagem de serem válidos mesmo com pequenas amostras.

Considere-se que, em cada estudo i , os dados estão organizados numa tabela de contingência (2x2) como a que se segue (Tabela 3.1).

Tabela 3.1 – Tabela de contingência (2x2) de eventos por tratamento

	Evento	Não evento	
Tratamento (Exposto)	a_i	b_i	n_T
Controlo (Não exposto)	c_i	d_i	n_C
	n_E	n_{NE}	N_i

Método de Mantel-Haenszel para Risco Relativo

Se \widehat{RR}_i representa o risco relativo do estudo i , então, da secção 3.1.1, \widehat{RR}_i é calculado por

$$\widehat{RR}_i = \frac{a_i n_C}{c_i n_T} . \quad (3.12)$$

No método de *Mantel-Haenszel* para o risco relativo a ponderação atribuída a cada estudo é dada por [20]

$$w_i = \frac{c_i n_T}{N_i} , \quad (3.13)$$

onde N_i representa o número de participantes no estudo i , ou seja, $N_i = a_i + b_i + c_i + d_i$ e a média ponderada para a medida de efeito, \widehat{RR}_{MH} , é calculada por

$$\widehat{RR}_{MH} = \frac{\sum_{i=1}^k (w_i \times \widehat{RR}_i)}{\sum_{i=1}^k w_i} . \quad (3.14)$$

Esta fórmula é semelhante à usada no método da variância inversa, mas as ponderações são definidas de forma diferente.

Das equações (3.12), (3.13) e (3.14) obtém-se a estimativa para o risco relativo global dada pelo método de *Mantel-Haenszel*,

$$\widehat{RR}_{MH} = \frac{\sum_{i=1}^k \left(\frac{c_i n_T}{N_i} \frac{a_i n_C}{c_i n_T} \right)}{\sum_{i=1}^k \frac{c_i n_T}{N_i}} = \frac{\sum_{i=1}^k \frac{a_i n_C}{N_i}}{\sum_{i=1}^k \frac{c_i n_T}{N_i}} . \quad (3.15)$$

Neste método, a variância do efeito global é estimada, em unidades logarítmicas, pela expressão [20]

$$S^2_{\ln(\widehat{RR}_{MH})} = \frac{\sum_{i=1}^k \left(\frac{n_E n_T n_C}{N_i^2} - \frac{a_i c_i}{N_i} \right)}{\left(\sum_{i=1}^k \frac{a_i n_C}{N_i} \right) \left(\sum_{i=1}^k \frac{c_i n_T}{N_i} \right)} \quad (3.16)$$

e os limites do intervalo de confiança a $(1 - \alpha) \times 100\%$ para RR podem ser dados por

$$LI_{RR_{MH}} = \exp \left(\ln(\widehat{RR}_{MH}) - z_{1-\alpha/2} \times S_{\ln(\widehat{RR}_{MH})} \right) \text{ e } LS_{RR_{MH}} = \exp \left(\ln(\widehat{RR}_{MH}) + z_{1-\alpha/2} \times S_{\ln(\widehat{RR}_{MH})} \right) . \quad (3.17)$$

Método de *Mantel-Haenszel* para Diferença de Riscos

Seja \widehat{DR}_i a diferença de riscos estimada do estudo i . Da secção 3.1.2 vem que

$$\widehat{DR}_i = \frac{a_i}{n_T} - \frac{c_i}{n_C} . \quad (3.18)$$

Para a diferença de riscos, o método de *Mantel-Haenszel* atribui a cada estudo uma ponderação dada por

$$w_i = \frac{n_T n_C}{N_i} . \quad (3.19)$$

Dada a ponderação a cada estudo, a média ponderada para a medida de efeito, \widehat{DR}_{MH} , é calculada de forma semelhante à do risco relativo

$$\widehat{DR}_{MH} = \frac{\sum_{i=1}^k (w_i \times \widehat{DR}_i)}{\sum_{i=1}^k w_i} . \quad (3.20)$$

Das equações anteriores, (3.18), (3.19) e (3.20), obtém-se a estimativa dada pelo método de *Mantel-Haenszel* para a diferença de riscos global

$$\widehat{DR}_{MH} = \frac{\sum_{i=1}^k \left[\frac{n_T n_C}{N_i} \left(\frac{a_i}{n_T} - \frac{c_i}{n_C} \right) \right]}{\sum_{i=1}^k \frac{n_T n_C}{N_i}} = \frac{\sum_{i=1}^k \left(\frac{a_i n_C - c_i n_T}{N_i} \right)}{\sum_{i=1}^k \frac{n_T n_C}{N_i}} . \quad (3.21)$$

Um estimador para a variância da diferença de riscos é dado pela expressão [21, 20]

$$S_{\widehat{DR}_{MH}}^2 = \frac{\sum_{i=1}^k \left[\left(\frac{n_T n_C}{N_i} \right)^2 \left(\frac{a_i b_i}{n_T^2 (n_T - 1)} + \frac{c_i d_i}{n_C^2 (n_C - 1)} \right) \right]}{\left(\sum_{i=1}^k \frac{n_T n_C}{N_i} \right)^2} \quad (3.22)$$

e os limites do intervalo de confiança a $(1 - \alpha) \times 100\%$ para DR podem ser dados por

$$LI_{DR_{MH}} = \widehat{DR}_{MH} - z_{1-\alpha/2} \times S_{\widehat{DR}_{MH}} \quad \text{e} \quad LS_{DR_{MH}} = \widehat{DR}_{MH} + z_{1-\alpha/2} \times S_{\widehat{DR}_{MH}} . \quad (3.23)$$

Método de *Mantel-Haenszel* para odds ratio

Considere-se \widehat{OR}_i o odds ratio estimado do estudo i , então, da secção 3.1.3, \widehat{OR}_i é calculado por

$$\widehat{OR}_i = \frac{a_i d_i}{b_i c_i} . \quad (3.24)$$

No método de *Mantel-Haenszel* a ponderação atribuída a cada estudo é dada por

$$w_i = \frac{b_i c_i}{N_i} , \quad (3.25)$$

e a média ponderada para a medida de efeito, \widehat{OR}_{MH} , é calculada por

$$\widehat{OR}_{MH} = \frac{\sum_{i=1}^k (w_i \times \widehat{OR}_i)}{\sum_{i=1}^k w_i} . \quad (3.26)$$

Das equações (3.24), (3.25) e (3.26) obtém-se o estimador para o efeito global dado pelo método de *Mantel-Haenszel*,

$$\widehat{OR}_{MH} = \frac{\sum_{i=1}^k \left(\frac{b_i c_i}{N_i} \frac{a_i d_i}{b_i c_i} \right)}{\sum_{i=1}^k \frac{b_i c_i}{N_i}} = \frac{\sum_{i=1}^k \frac{a_i d_i}{N_i}}{\sum_{i=1}^k \frac{b_i c_i}{N_i}} . \quad (3.27)$$

Neste método, a variância do efeito global é estimada, em unidades logarítmicas, pela expressão [4]

$$S^2_{\ln(\widehat{OR}_{MH})} = \frac{1}{2} \left(\frac{\sum_{i=1}^k P_i R_i}{\left(\sum_{i=1}^k R_i \right)^2} + \frac{\sum_{i=1}^k (P_i R_i + Q_i R_i)}{\sum_{i=1}^k R_i \times \sum_{i=1}^k S_i} + \frac{\sum_{i=1}^k Q_i S_i}{\left(\sum_{i=1}^k S_i \right)^2} \right) \quad (3.28)$$

onde, para cada estudo i , se define: $P_i = \frac{(a_i + d_i)}{N_i}$, $Q_i = \frac{(b_i + c_i)}{N_i}$, $R_i = \frac{a_i d_i}{N_i}$ e $S_i = \frac{b_i c_i}{N_i}$.

Os limites do intervalo de confiança a $(1 - \alpha) \times 100\%$ para OR podem ser dados, aproximadamente, por

$$LI_{OR_{MH}} = \exp \left[\ln(\widehat{OR}_{MH}) - z_{1-\alpha/2} \times S_{\ln(\widehat{OR}_{MH})} \right] \text{ e } LS_{OR_{MH}} = \exp \left[\ln(\widehat{OR}_{MH}) + z_{1-\alpha/2} \times S_{\ln(\widehat{OR}_{MH})} \right] . \quad (3.29)$$

3.1.3 Método de Peto

Uma alternativa ao método de *Mantel-Haenszel* para o *odds ratio* é o método de *Peto*. Este método pode dar origem a estimativas bastante enviesadas, mas apresenta vantagens quando existem estudos com grupos sem eventos, uma vez que a presença de zeros impossibilita o cálculo do *odds ratio*.

O primeiro passo deste método é calcular, para cada estudo, o valor esperado de eventos no grupo de tratamento, usando o produto dos totais marginais dividido pela dimensão da amostra [22],

$$E_i = \frac{n_T \times n_E}{N_i} . \quad (3.30)$$

De seguida calcula-se a diferença entre o valor observado, O_i (sendo $O_i = a_i$), e o valor esperado, E_i . O logaritmo do *odds ratio* de cada estudo é estimado por

$$\ln(\widehat{OR}_i) = \frac{O_i - E_i}{V_i}, \quad (3.31)$$

onde V_i representa a variância de $O_i - E_i$ e é dada por [22, 23]

$$V_i = \frac{E_i \times n_{NE} \times n_C}{N_i \times (N_i - 1)} = \frac{n_T \times n_C \times n_E \times n_{NE}}{N_i^2 \times (N_i - 1)}. \quad (3.32)$$

O logaritmo do *odds ratio* de Peto, OR_P , é estimado pela média ponderada das estimativas do logaritmo do *odds ratio* de cada estudo [4]:

$$\ln(\widehat{OR}_P) = \frac{\sum_{i=1}^k [w_i \times \ln(\widehat{OR}_i)]}{\sum_{i=1}^k w_i}. \quad (3.33)$$

Neste caso o peso atribuído a cada estudo é dado por V_i . Assim, o estimador do logaritmo do *odds ratio* de Peto é obtido pela expressão

$$\ln(\widehat{OR}_P) = \frac{\sum_{i=1}^k (O_i - E_i)}{\sum_{i=1}^k V_i} \quad (3.34)$$

e a sua variância é dada pelo inverso da soma das variâncias V_i [4, 22, 23]

$$S_{\ln(\widehat{OR}_P)}^2 = \frac{1}{\sum_{i=1}^k V_i}. \quad (3.35)$$

Finalmente, a medida meta-analítica é obtida através da exponencial da estimativa obtida para o logaritmo do *odds ratio*,

$$\widehat{OR}_P = \exp[\ln(\widehat{OR}_P)] \quad (3.36)$$

e os limites do intervalo de confiança a $(1 - \alpha) \times 100\%$ para OR são também determinados em unidades logarítmicas e posteriormente convertidos nas unidades originais

$$LI_{OR_P} = \exp\left[\ln(\widehat{OR}_P) - z_{1-\alpha/2} \times S_{\ln(\widehat{OR}_P)}\right] \text{ e } LS_{OR_P} = \exp\left[\ln(\widehat{OR}_P) + z_{1-\alpha/2} \times S_{\ln(\widehat{OR}_P)}\right]. \quad (3.37)$$

Resumindo:

O método da variância inversa é o mais usual em meta-análises sob o pressuposto do modelo de efeito-fixo e deve ser usado quando os estudos têm amostras grandes e são mais precisos.

O método de *Mantel-Haenszel* é aplicado a dados binários e representa uma alternativa ao método da variância inversa quando os estudos apresentam amostras pequenas e/ou baixas taxas de evento.

No caso de existirem estudos com grupos sem eventos, o método de *Peto* para *odds ratio* apresenta vantagens, resolvendo o problema da presença de zeros no cálculo do *odds ratio*, todavia dá origem a estimativas mais enviesadas.

3.2. Modelo de efeitos aleatórios

Na secção anterior foi visto que o modelo de efeito fixo assume que o verdadeiro efeito é o mesmo em todos os estudos, no entanto, muitas meta-análises baseiam-se em estudos que não são exatamente idênticos nos seus métodos e/ou nas características das amostras incluídas. As diferenças nos métodos e características das amostras podem introduzir variabilidade (“heterogeneidade”) nos verdadeiros efeitos. Portanto, o verdadeiro efeito não é o mesmo em todos os estudos, porque, para além dos erros de amostragem, o efeito observado em cada estudo, θ_i , é influenciado por especificidades do próprio estudo. No entanto, apesar de os verdadeiros efeitos dos estudos não serem considerados iguais, assume-se que seguem uma distribuição de probabilidades que se pressupõe ser normal. Segundo o pressuposto do modelo de efeitos aleatórios, pode-se escrever

$$\theta_i = \theta + \zeta_i + \varepsilon_i \quad (3.38)$$

sendo θ o efeito global (a estimar), ζ_i os efeitos aleatórios do estudo i (ou seja, a diferença entre verdadeiro efeito do estudo e o efeito global) e ε_i o erro de amostragem associado ao estudo i (Figura 3.2).

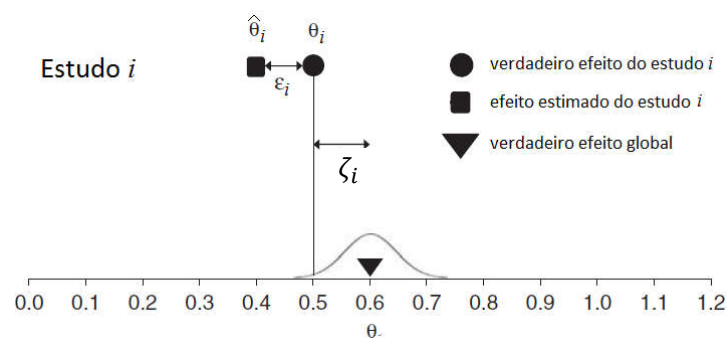


Figura 3.2 – Ilustração do modelo de efeitos aleatórios – verdadeiro efeito e efeito observado em cada estudo. Figura adaptada de Borenstein (2009) [4].

Este modelo considera ainda que $\zeta_i \sim N(0, \tau^2)$ e $\varepsilon_i \sim N(0, S_i^2)$, onde o parâmetro τ^2 representa a variância entre estudos e S_i^2 representa a variância amostral dentro de cada estudo. Assumindo que ζ_i e ε_i são independentes entre si pode considerar-se que

$$\hat{\theta}_i \sim N(\theta, \tau^2 + S_i^2). \quad (3.39)$$

Tal como no modelo de efeito fixo, o efeito global é estimado combinando os efeitos observados em cada estudo, através de uma média ponderada. Contudo a variabilidade entre os estudos tem de ser considerada. Existem vários métodos que consideram diferentes formas de incorporar a variabilidade na determinação da estimativa do efeito global e/ou do seu intervalo de confiança. O mais comum é o método de DerSimonian e Laird, mas, mais recentemente, têm sido propostos vários outros métodos, que diferem entre si, principalmente, na forma como incorporam a heterogeneidade na determinação do efeito combinado e/ou do seu intervalo de confiança. Por exemplo, o método de heterogeneidade de variância inversa (método IVhet) utiliza uma abordagem de quase-verosimilhança, inflacionando a variância de cada estudo, através de um parâmetro de escala, de forma a ter em conta a heterogeneidade. O método de efeitos de qualidade também incorpora a variabilidade entre os estudos na estimativa do efeito global, no entanto, propõe um ajustamento a essa variância na atribuição dos pesos a cada estudo com uma ponderação baseada na qualidade dos estudos.

3.2.1 Método de DerSimonian e Laird

O método proposto por DerSimonian e Laird (1986) [24] é uma variação do método da variância inversa, ajustando a variância com a variância entre os estudos. Para estimar o efeito global, DerSimonian e Laird usam o estimador semi-ponderado de Cochran [25]

$$\hat{\theta}_{DL} = \frac{\sum_{i=1}^k (w_i^* \times \hat{\theta}_i)}{\sum_{i=1}^k w_i^*}, \quad (3.40)$$

sendo as ponderações, w_i^* , dadas por

$$w_i^* = \frac{1}{\tau^2 + S_i^2}. \quad (3.41)$$

Como a variância entre estudos, τ^2 , é geralmente desconhecida, DerSimonian e Laird propõem um método para determinar um estimador, $\hat{\tau}^2$, baseado no método dos momentos. Este método é desenvolvido a partir da estatística de teste Q , que é utilizada na avaliação da heterogeneidade na meta-análise. A definição da estatística de teste Q e a dedução do estimador de τ^2 pelo método dos momentos serão abordados posteriormente (secções 4.1 e 4.3, respetivamente).

3.2.2 Método da máxima verosimilhança

Uma alternativa ao método de DerSimonian e Laird é o método da máxima verosimilhança [26, 27]. Sendo que, este método difere do anterior apenas na forma de estimar a variância entre os estudos.

Note-se que, similarmente ao que acontece no modelo de efeito fixo, se τ^2 for conhecido, prova-se que o estimador de máxima verosimilhança para θ é dado pela média ponderada dos efeitos observados em cada estudo:

A função de máxima verosimilhança neste caso é dada por

$$L(\hat{\theta}_1, \dots, \hat{\theta}_k, \theta, \tau^2) = \prod_{i=1}^k (2\pi \cdot (\tau^2 + S_i^2))^{-1/2} \cdot \exp \left(\sum_{i=1}^k -\frac{1}{2} \frac{(\hat{\theta}_i - \theta)^2}{\tau^2 + S_i^2} \right), \quad (3.42)$$

e o logaritmo de $L(\hat{\theta}_1, \dots, \hat{\theta}_k, \theta, \tau^2)$ é

$$\ln L(\hat{\theta}_1, \dots, \hat{\theta}_k, \theta, \tau^2) = -\frac{1}{2} \times \left[\sum_{i=1}^k \ln(2\pi(\tau^2 + S_i^2)) + \sum_{i=1}^k \frac{(\hat{\theta}_i - \theta)^2}{\tau^2 + S_i^2} \right]. \quad (3.43)$$

Derivando esta expressão em ordem a θ e igualando o resultado a zero obtém-se o estimador de máxima verosimilhança para θ , com a mesma forma da equação (3.40)

$$\hat{\theta}_{MV} = \frac{\sum_{i=1}^k (w_i^* \times \hat{\theta}_i)}{\sum_{i=1}^k w_i^*}, \quad (3.44)$$

com as ponderações, w_i^* , também dadas por (3.41).

No entanto, como já foi referido, a variância entre estudos, τ^2 , é geralmente desconhecida. Um estimador para τ^2 pode ser obtido derivando o logaritmo da função de máxima verosimilhança (equação (3.43)) em ordem τ^2 ,

$$\frac{\partial}{\partial \tau^2} \ln L(\hat{\theta}_1, \dots, \hat{\theta}_k, \theta, \tau^2) = -\frac{1}{2} \left[\sum_{i=1}^k \frac{1}{\tau^2 + S_i^2} - \sum_{i=1}^k \frac{(\hat{\theta}_i - \theta)^2}{(\tau^2 + S_i^2)^2} \right]. \quad (3.45)$$

Igualando o resultado a zero obtém-se um estimador para τ^2 , dado por

$$\hat{\tau}^2 = \frac{\sum_{i=1}^k \frac{(\hat{\theta}_i - \hat{\theta}_{MV})^2 - S_i^2}{(\hat{\tau}^2 + S_i^2)^2}}{\sum_{i=1}^k \frac{1}{(\hat{\tau}^2 + S_i^2)^2}}. \quad (3.46)$$

Como é possível que esta expressão dê origem a valores negativos, o que não faz sentido para valores de τ^2 , define-se o estimador de máxima verosimilhança para τ^2 por [27]

$$\hat{\tau}_{MV}^2 = \begin{cases} \hat{\tau}^2, & \text{se } \hat{\tau}^2 > 0 \\ 0, & \text{se } \hat{\tau}^2 \leq 0 \end{cases} . \quad (3.47)$$

Note-se que, por este método, $\hat{\tau}_{MV}^2$ e $\hat{\theta}_{MV}$ apenas podem ser obtidos através métodos iterativos [27].

Para estes dois métodos, a variância do efeito global é estimada pelo inverso da soma dos pesos atribuídos a cada estudo,

$$S_{\hat{\theta}}^2 = \frac{1}{\sum_{i=1}^k w_i^*} . \quad (3.48)$$

Os limites do intervalo de confiança a $(1 - \alpha) \times 100\%$ para θ podem ser dados por

$$LI_{\theta} = \hat{\theta} - z_{1-\alpha/2} \times S_{\hat{\theta}} \quad \text{e} \quad LS_{\theta} = \hat{\theta} + z_{1-\alpha/2} \times S_{\hat{\theta}} . \quad (3.49)$$

Note-se que nestes métodos de efeitos aleatórios a determinação da ponderação, w_i^* , a atribuir a cada estudo, também pode ser feita utilizando os métodos de *Mantel-Haenszel* ou de *Peto*, de acordo com as mesmas orientações seguidas no modelo de efeito fixo.

Repare-se ainda que $w_i^* \leq w_i$ e, conseqüentemente, a variância do efeito global estimada por estes métodos é igual ou superior à variância obtida pelos métodos de efeito fixo e, portanto, na presença de heterogeneidade, os intervalos de confiança obtidos por estes métodos são, geralmente, mais largos que os intervalos obtidos pelos métodos de efeito fixo [27].

3.2.3 Método de efeitos de qualidade

Doi e Thalib (2008) [28] propõem um novo método para incorporar a variabilidade entre os estudos. Os autores consideram que uma das principais diferenças entre os estudos pode ser a sua qualidade e a qualidade dos estudos pode afetar a qualidade da estimativa combinada e do seu intervalo de confiança. Posto isto, é proposta uma abordagem para o ajustamento da variabilidade entre estudos incorporando na atribuição dos pesos, para além da variância dentro do estudo, uma ponderação baseada na qualidade de cada estudo [28]. Segundo este método, o efeito global, θ , é estimado pela seguinte média ponderada

$$\hat{\theta} = \frac{\sum_{i=1}^k (Q_i \times w_i \times \hat{\theta}_i)}{\sum_{i=1}^k (Q_i \times w_i)} , \quad (3.50)$$

onde w_i é a ponderação pelo inverso da variância e Q_i corresponde a uma medida de qualidade numa escala de 0 a 1, que representa a probabilidade do estudo i ser credível com base na metodologia do estudo [28]. Esta medida será designada, a partir de agora, por ponderação de qualidade.

Os autores propõem, ainda, um ajustamento à ponderação de qualidade de cada estudo que incorpora uma forma de redistribuir as ponderações baseadas na qualidade, como se descreve seguidamente.

Considere-se $\hat{\tau}_i$ um índice de correção de qualidade para o estudo i definido por

$$\hat{\tau}_i = \left(\sum_{i=1}^k \tau_i \right) - \tau_i \quad \text{onde} \quad \tau_i = \frac{w_i - (w_i \times Q_i)}{k-1} . \quad (3.51)$$

A ponderação de qualidade modificada para o estudo i é dada por

$$\hat{Q}_i = Q_i + \left(\frac{\hat{\tau}_i}{w_i} \right) . \quad (3.52)$$

Usando este procedimento os pesos de qualidade são redistribuídos atribuindo maior ponderação aos estudos de maior qualidade.

O efeito global é agora estimado por

$$\hat{\theta}_{EQ} = \frac{\sum_{i=1}^k (\hat{Q}_i \times w_i \times \hat{\theta}_i)}{\sum_{i=1}^k (\hat{Q}_i \times w_i)} \quad (3.53)$$

e a sua variância por

$$S_{\hat{\theta}_{EQ}}^2 = \frac{\sum_{i=1}^k (Q_i^2 \times w_i)}{\left[\sum_{i=1}^k (Q_i \times w_i) \right]^2} . \quad (3.54)$$

Os limites do intervalo de confiança a $(1 - \alpha) \times 100\%$ para o efeito global são estimados como nos modelos anteriores por

$$LI_{\theta_{EQ}} = \hat{\theta}_{EQ} - z_{1-\alpha/2} \times S_{\hat{\theta}_{EQ}} \quad \text{e} \quad LS_{\theta_{EQ}} = \hat{\theta}_{EQ} + z_{1-\alpha/2} \times S_{\hat{\theta}_{EQ}} . \quad (3.55)$$

O índice de correção de qualidade definido anteriormente redistribui as ponderações removidas de cada estudo igualmente pelos restantes estudos [29]. Mais tarde, Doi e Thalib (2009) [29] propõem um novo índice de correção que permite redistribuir a ponderação removida pelos restantes estudos proporcionalmente à sua qualidade,

$$\hat{\tau}_i = \left[\left(\sum_{i=1}^k \tau_i \right) \times k \times \frac{Q_i}{\sum_{i=1}^k Q_i} \right] - \tau_i. \quad (3.56)$$

Neste caso, o valor total de ponderação redistribuído é o mesmo, mas cada estudo recebe uma quantidade ligeiramente diferente de acordo com a sua qualidade. O efeito global é estimado da mesma forma que o descrito anteriormente [29].

Estudos recentes demonstram que, apesar da subjetividade da avaliação de qualidade, o desempenho do método de efeitos de qualidade é superior ao obtido com os métodos anteriores, representando uma clara melhoria para lidar com a heterogeneidade [30, 31].

3.2.4 Método de heterogeneidade de variância inversa

O método de heterogeneidade de variância inversa (método IVhet), proposto por Doi *et al.* em 2015 [32], surge como alternativa aos métodos anteriores em meta-análise de efeitos aleatórios. De um modo geral, o modelo de efeitos aleatórios pressupõe que os verdadeiros efeitos dos estudos são diferentes uns dos outros e são normalmente distribuídos. No entanto, esta suposição não é justificada, uma vez que os efeitos não constituem uma amostra aleatória de uma população [32, 27]. Com o aumento da heterogeneidade, o método de DerSimonian e Laird (assim como o método de máxima verossimilhança) tende a subestimar o erro estatístico, dando origem a intervalos de confiança com baixa probabilidade de cobertura [32]. Isso acontece porque o aumento da heterogeneidade faz com que os pesos atribuídos a cada estudo se tornem mais ou menos iguais, tendendo para $1/k$, que não é o peso ideal a atribuir a cada estudo. Neste caso, o método de DerSimonian e Laird dá origem a uma média aritmética, em vez de uma média ponderada das medidas de efeito observadas.

Uma forma de obter um estimador para a variância mais próximo da variância observada é através de uma abordagem de quase-verossimilhança. Segundo o método IVhet, a meta-análise é levada a cabo sob o pressuposto do modelo de efeito fixo, usando a variância inversa como peso a atribuir a cada estudo. Portanto, sendo $w_i = 1/S_i^2$, o estimador para o efeito global é dado por

$$\hat{\theta}_{IVhet} = \frac{\sum_{i=1}^k (w_i \times \hat{\theta}_i)}{\sum_{i=1}^k w_i}. \quad (3.57)$$

Porém, de forma a ter em conta a heterogeneidade, a variância de cada estudo i é inflacionada usando um parâmetro de escala, φ_i [32]. Neste contexto, esse parâmetro é definido através do coeficiente de correlação intraclasse (ICC_i) [33]:

$$\varphi_i = \frac{1}{1-ICC_i} , \quad (3.58)$$

onde

$$ICC_i = \frac{\tau^2}{\tau^2 + S_i^2} . \quad (3.59)$$

O parâmetro φ_i é, então, dado pela expressão

$$\varphi_i = \frac{\tau^2 + S_i^2}{S_i^2} . \quad (3.60)$$

Como foi visto em 3.1.1, a variância do estimador ponderado do efeito global é dada por

$$Var[\hat{\theta}] = \frac{\sum_{i=1}^k (w_i^2 \cdot Var[\hat{\theta}_i])}{\left(\sum_{i=1}^k w_i\right)^2} . \quad (3.61)$$

Aplicando o parâmetro de escala, φ_i , à variância de cada estudo obtém-se o estimador para a variância do efeito global dado pelo método IVhet

$$S_{\hat{\theta}_{IVhet}}^2 = \frac{\sum_{i=1}^k (w_i^2 \cdot S_i^2 \cdot \varphi_i)}{\left(\sum_{i=1}^k w_i\right)^2} = \frac{\sum_{i=1}^k \left(w_i^2 \cdot S_i^2 \cdot \frac{\tau^2 + S_i^2}{S_i^2} \right)}{\left(\sum_{i=1}^k w_i\right)^2} , \quad (3.62)$$

ou seja,

$$S_{\hat{\theta}_{IVhet}}^2 = \frac{\sum_{i=1}^k [w_i^2 \cdot (\tau^2 + S_i^2)]}{\left(\sum_{i=1}^k w_i\right)^2} . \quad (3.63)$$

Os limites do intervalo de confiança a $(1 - \alpha) \times 100\%$ para θ podem ser dados por

$$LI_{\theta_{IVhet}} = \hat{\theta}_{IVhet} - z_{1-\alpha/2} \times S_{\hat{\theta}_{IVhet}} \quad \text{e} \quad LS_{\theta_{IVhet}} = \hat{\theta}_{IVhet} + z_{1-\alpha/2} \times S_{\hat{\theta}_{IVhet}} . \quad (3.64)$$

Através de simulação, Doi *et al.*, concluem que, comparativamente com o método proposto por DerSimonian e Laird, o método IVhet atribui maior ponderação aos estudos maiores, dá origem a intervalos de confiança mais conservadores, mas, ainda assim, com uma correta probabilidade de

cobertura e obtém uma menor variância observada, independentemente do grau de heterogeneidade [32].

3.2.5 Outros métodos de meta-análise de efeitos aleatórios

Para além dos métodos de meta-análise para estudos heterogêneos aqui desenvolvidos, várias outras abordagens têm sido propostas na literatura. Os vários métodos propostos diferem entre si sobretudo na forma como incorporam a heterogeneidade no efeito global estimado e/ou no respetivo intervalo de confiança. Seguem-se alguns exemplos de métodos propostos recentemente e as respetivas referências para consulta de mais detalhes.

- Método de Biggerstaff e Tweedie [34];
- Métodos de verosimilhança:
 - Método da razão de verosimilhança de Hardy e Thompson [26];
 - Método de máxima verosimilhança restrita proposto por Normand [35];
- Método de Sidik e Jonkman [36];
- Método de Henmi e Copas [37].

4. Heterogeneidade

Ao realizar uma meta-análise, é necessário saber se a medida de efeito é consistente entre os estudos, ou se varia, e considerar as diferentes implicações dessa variação. Desta forma, é importante identificar e quantificar a heterogeneidade das medidas de efeito. Surge, porém, um problema, a variação observada nas medidas de efeito estimadas inclui a verdadeira variação (ou seja a verdadeira heterogeneidade) mas também o erro aleatório.

Para avaliar a existência de heterogeneidade é, habitualmente realizado o teste Q proposto por Cochran (1954). Na evidência de presença de heterogeneidade, esta pode ser quantificada através da estimativa da variância entre os estudos, $\hat{\tau}^2$, ou através da estatística I^2 de Higgings e Thompson (2002). Neste caso, o investigador tem várias alternativas: pode optar por não combinar os resultados, pode ignorar essa heterogeneidade, utilizando o modelo de efeito fixo, pode considerá-la na meta-análise pelo uso de métodos com efeitos aleatórios ou pode explorá-la, tentando explicar as diferenças através de análises alternativas como meta-regressão ou análise de subgrupos [11]. Algumas representações gráficas usadas na meta-análise também poderão ser úteis na identificação e exploração da heterogeneidade.

4.1. Teste Q de Cochran

O teste Q de Cochran (também designado por teste do χ^2) é o método mais utilizado para avaliação da heterogeneidade. Neste teste assume-se como hipótese nula a homogeneidade entre os k estudos que compõem a meta-análises:

$$H_o: \theta_1 = \theta_2 = \dots = \theta_k = \theta \quad \text{vs} \quad H_1: \exists i, j: \theta_i \neq \theta_j, \quad i \neq j. \quad (4.1)$$

O teste baseia-se na estatística Q que calcula a soma ponderada dos quadrados dos desvios da medida de efeito observada de cada estudo, $\hat{\theta}_i$, em relação à medida de efeito global estimada pela meta-análise, $\hat{\theta}$. A ponderação é feita pelo inverso da variância estimada de cada estudo, S_i^2 . A estatística Q é dada por

$$Q = \sum_{i=1}^k w_i (\hat{\theta}_i - \hat{\theta})^2, \quad (4.2)$$

onde w_i é o peso atribuído ao estudo i , dado por $w_i = 1/S_i^2$. Desenvolvendo o quadrado em (4.2) e usando $\hat{\theta} = \sum_{i=1}^k (w_i \hat{\theta}_i) / \sum_{i=1}^k w_i$ é possível desenvolver uma fórmula equivalente,

$$\begin{aligned}
Q &= \sum_{i=1}^k w_i \hat{\theta}_i^2 - 2\hat{\theta} \cdot \sum_{i=1}^k (w_i \hat{\theta}_i) + \hat{\theta}^2 \cdot \sum_{i=1}^k w_i \\
&= \sum_{i=1}^k w_i \hat{\theta}_i^2 - 2\hat{\theta} \cdot \frac{\sum_{i=1}^k w_i \hat{\theta}_i}{\sum_{i=1}^k w_i} \cdot \sum_{i=1}^k w_i + \hat{\theta}^2 \cdot \sum_{i=1}^k w_i \\
&= \sum_{i=1}^k w_i \hat{\theta}_i^2 - \hat{\theta}^2 \cdot \sum_{i=1}^k w_i ,
\end{aligned}$$

ou seja,

$$Q = \sum_{i=1}^k w_i \hat{\theta}_i^2 - \frac{\left(\sum_{i=1}^k w_i \hat{\theta}_i \right)^2}{\sum_{i=1}^k w_i} . \quad (4.3)$$

Sob o pressuposto do teste (homogeneidade entre os estudos) Q segue, aproximadamente, uma distribuição qui-quadrado (χ^2) com $k - 1$ graus de liberdade e, portanto, $Q = k - 1$. Desta forma, a diferença entre Q e $k - 1$ reflete a heterogeneidade entre os estudos. O valor- p calculado indica se a heterogeneidade é, ou não, significativa.

Este teste depende do número de estudos, apresentando um baixo poder em meta-análises que envolvam um pequeno número de estudos e um poder excessivo quando o número estudos é elevado [38]. Perante um reduzido número de estudos, o teste Q de *Cochran* pode não detetar heterogeneidade, mesmo havendo uma grande variação entre as medidas de efeito. Por outro lado, quando o número de estudos é elevado o teste pode evidenciar uma heterogeneidade significativa que não tenha relevância prática. Este teste deve ser usado apenas como um teste de hipóteses, não servindo para quantificar a heterogeneidade [4].

4.2. Estatística I^2

Perante as desvantagens apontadas ao teste Q de *Cochran*, *Higgins* e *Thompson* (2002) propõem a estatística I^2 que quantifica a proporção da variação total que se deve à heterogeneidade e não ao erro de amostragem [38]. A estatística I^2 é obtida a partir da estatística Q de *Cochran* e é dada por

$$I^2 = \begin{cases} 0 & , \text{ se } Q \leq k-1 \\ \frac{Q - (k-1)}{Q} \times 100\% & , \text{ se } Q > k-1 \end{cases} . \quad (4.4)$$

Numa escala sugerida por Higgins *et al.* [39] valores de I^2 próximos de 0% indicam não heterogeneidade, valores próximos de 25% representam baixa heterogeneidade, valores próximos de 50% representam heterogeneidade moderada e valores próximos de 75% representam elevada heterogeneidade.

A estatística I^2 quantifica o efeito da heterogeneidade na meta-análise e apresenta algumas vantagens em relação à estatística de Q de Cochran: é de fácil interpretação, independentemente do tipo de dados utilizados (binários, contínuos, etc.) e não depende do número de estudos da meta-análise.

Higgins e Thompson [38] defendem que a estatística I^2 deve ser acompanhada de um intervalo de incerteza e apresentam oito métodos para obtenção desse intervalo. Os autores consideram que o ideal seria usar métodos *Bayesianos* para obter esses intervalos, no entanto, estes requerem métodos intensivos de cálculo e *software* específico, por isso, sugerem intervalos obtidos pelo método *test-based* por serem fáceis de calcular e terem uma cobertura razoável. Este método baseia-se numa transformação de I^2 :

$$H^2 = \frac{1}{1 - I^2} = \frac{Q}{k - 1} \quad (4.5)$$

e utiliza a estatística

$$Z = \sqrt{2Q} - \sqrt{2k - 3} \quad (4.6)$$

que segue, aproximadamente, uma distribuição normal padrão (fórmula 26.4.13 de Abranowitz e Stegun [12]) [38]. Sob o pressuposto que $Q = k - 1$, também

$$\frac{\ln(Q) - \ln(k - 1)}{SD[\ln(Q)]} \quad (4.7)$$

segue, aproximadamente, uma distribuição normal padrão. Assim, igualando as duas expressões (4.6) e (4.7) é possível estimar o desvio padrão de $\ln(Q)$ usando

$$S_{\ln(Q)} = \frac{\ln(Q) - \ln(k - 1)}{\sqrt{2Q} - \sqrt{2k - 3}}. \quad (4.8)$$

Como $Q = (k - 1)H^2$ e k é constante, então $SD[\ln(Q)] = 2 \times SD[\ln(H)]$ e daí, o desvio padrão de H pode ser estimado por

$$S_{\ln(H)} = \frac{1}{2} \times \frac{\ln(Q) - \ln(k - 1)}{\sqrt{2Q} - \sqrt{2k - 3}}. \quad (4.9)$$

Um inconveniente deste método é que o desvio padrão aproxima-se de zero quando H toma valores próximos de 1. No entanto, pequenos valores de H indicam homogeneidade dos estudos e, nesse caso, Q segue uma distribuição χ^2 com $k - 1$ graus de liberdade. Assim, podemos aproximar

a variância de $\ln(Q/(k-1)) = 2 \times \ln(H)$ (fórmula 26.4.36 de Abranowitz e Stegun [40]) e estimar o desvio padrão por

$$S_{\ln(H)} = \sqrt{\frac{1}{2(k-2)} \cdot \left(1 - \frac{1}{3(k-1)^2}\right)}. \quad (4.10)$$

O estudo empírico do comportamento de $SE[\ln(H)]$ sugere que a fórmula (4.10) deve ser usada sempre que $Q \leq k$, enquanto a fórmula (4.9) deve ser usada para $Q > k$ [38].

Após estimar o desvio padrão de $\ln(H)$ e assumindo a normalidade aproximada, os limites de um intervalo com $(1 - \alpha) \times 100\%$ de confiança para H são dados por

$$LI_H = \exp\left(\ln H - z_{1-\alpha/2} \times S_{\ln(H)}\right) \quad \text{e} \quad LS_H = \exp\left(\ln H + z_{1-\alpha/2} \times S_{\ln(H)}\right). \quad (4.11)$$

Pode-se, posteriormente, aplicar a transformação inversa $I^2 = (H^2 - 1)/H^2$ e transformar cada um dos limites obtidos de novo em percentagem de heterogeneidade, I^2 .

4.3. Variância entre estudos

O parâmetro τ^2 representa a variância dos verdadeiros efeitos, ou seja, a variância entre os estudos. Como os verdadeiros efeitos não podem ser observados esta variância não pode ser determinada diretamente, desta forma, esta tem de ser estimada a partir dos efeitos observados [4].

A determinação de um estimador para o valor de τ^2 pode ser feita utilizando o método dos momentos também conhecido por método de *DerSimonian e Laird*. Este método consiste em igualar a estatística Q ao seu valor esperado, $E[Q]$ [27].

A partir da estatística Q definida pela equação (4.2) pode-se demonstrar que (ver Apêndice A)

$$E[Q] = k - 1 + \tau^2 \left(\sum_{i=1}^k w_i - \frac{\sum_{i=1}^k w_i^2}{\sum_{i=1}^k w_i} \right). \quad (4.12)$$

Igualando esta expressão a Q obtém-se um estimador para τ^2

$$\hat{\tau}^2 = \frac{Q - (k - 1)}{\sum_{i=1}^k w_i - \frac{\sum_{i=1}^k w_i^2}{\sum_{i=1}^k w_i}}. \quad (4.13)$$

No entanto, repare-se que esta expressão pode dar origem a valores não positivos (se $Q \leq k - 1$), e isso não faz sentido quando se calcula uma variância. Então, nesse caso, assume-se que $\hat{\tau}^2$ vale zero. Assim sendo, um estimador para a variância entre estudos obtido pelo método de *DerSimonian e Laird* é definido por

$$\hat{\tau}_{DL}^2 = \begin{cases} \hat{\tau}^2, & \text{se } \hat{\tau}^2 > 0 \\ 0, & \text{se } \hat{\tau}^2 \leq 0 \end{cases} \quad (4.14)$$

4.4. Representações gráficas

Algumas representações gráficas podem ser usadas informalmente para identificar heterogeneidade entre os estudos. O *forest plot*, por exemplo, usado para apresentar os resultados de uma meta-análise, pode fornecer informação sobre heterogeneidade. Através de avaliação visual verifica-se a sobreposição dos intervalos de confiança, se existir pouca sobreposição será de concluir a existência de heterogeneidade. Outros gráficos também utilizados na avaliação da heterogeneidade são o diagrama de *Galbraith (radial plot)* e o gráfico de *L'Abbé (L'Abbé plot)*.

Diagrama de *Galbraith (radial plot)*

O diagrama de *Galbraith*, também conhecido por *radial plot*, foi proposto por Galbraith em 1988 com o objetivo de avaliar a extensão da heterogeneidade entre os estudos de uma meta-análise. Trata-se de um diagrama de dispersão das estimativas das medidas de efeito padronizadas, $\hat{\theta}_i/S_i$, no eixo vertical, contra a precisão, ou seja, o inverso do desvio padrão, $1/S_i$, no eixo horizontal. Cada estudo fica, assim, representado por um ponto, de forma que as estimativas de menor precisão ficam mais próximas da origem, ou seja mais à esquerda, enquanto as estimativas dos estudos mais precisos aparecem representados mais à direita [41]. Neste diagrama é traçada uma reta de regressão que contém a origem (0,0) e tem declive igual à estimativa do efeito global obtida sob o pressuposto do modelo de efeito fixo. Para além desta, são traçadas outras duas retas, paralelas à primeira, a uma distância desta de dois desvios padrão, formando uma faixa (Figura 4.1) [42]. Se se verificar o pressuposto do modelo de efeito fixo, ou seja, se existir um efeito comum a todos os estudos, espera-se que 95% das estimativas dos estudos estejam dentro desta faixa.

A dispersão vertical dos pontos no diagrama de *Galbraith* reflete a extensão da heterogeneidade entre os estudos [41]. O gráfico (a) da Figura 4.1 reflete maior heterogeneidade do que o gráfico (b), porque existe maior dispersão dos pontos em torno da reta de regressão e observa-se um maior número de pontos fora da faixa de confiança. Estudos que não sejam consistentes com os restantes,

em geral, são facilmente identificados porque correspondem a pontos que estão fora da faixa de confiança. Esses estudos podem ser investigados para analisar de que forma diferem dos restantes.

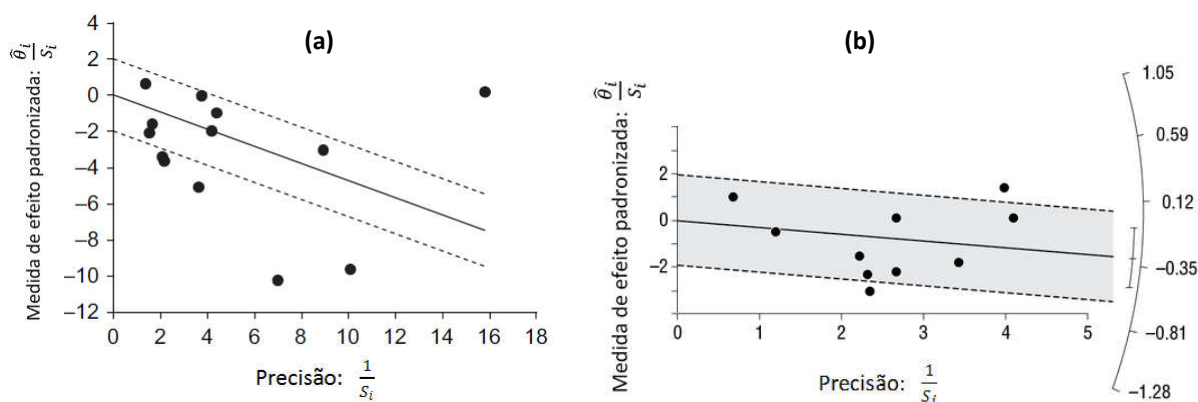


Figura 4.1 – Ilustrações de diagramas de *Galbraith*. (a) Imagem adaptada de Bax et al. (2008) [42]. (b) Imagem adaptada de Wang et al. (2012) [43].

Originalmente, Galbraith propôs um eixo radial (arco de circunferência) para as medidas de efeito do lado direito do diagrama (Figura 4.1 (b)). Nesse eixo pode ser lido o valor de uma estimativa de um estudo individual traçando uma linha desde a origem (0, 0) através do ponto correspondente ao estudo [5]. No entanto, este eixo não é necessário para a interpretação do diagrama e, atualmente, apenas alguns programas de meta-análise o implementam [42].

Este diagrama possibilita, ainda, a representação de subgrupos diferenciados de estudos através do uso de diferentes símbolos, o que pode ajudar a identificar possíveis fontes de heterogeneidade [41].

Gráfico de *L'Abbé* (*L'Abbé plot*)

O gráfico de *L'Abbé* foi introduzido por Kristan *L'Abbé*, em 1987, no contexto de meta-análises estudos com resultados binários [41]. Este tipo de gráfico só é aplicável em meta-análises de estudos que comparam dois grupos (por exemplo, tratamento e controle). Este gráfico permite comparar os riscos (ou *odds*) observados no grupo de tratamento (eixo vertical) contra os riscos observados no grupo de controle (eixo horizontal) [41, 42]. O gráfico inclui uma linha diagonal central indicando riscos semelhantes em cada grupo (Figura 4.2). Acima da diagonal ficam representados estudos que favorecem o grupo de tratamento, enquanto abaixo da diagonal ficam

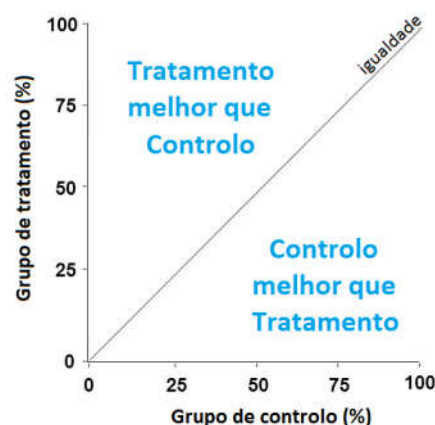


Figura 4.2 – Esquema ilustrativo do gráfico de *L'Abbé*.

representados aqueles que são favoráveis ao grupo de controlo. Além da linha central, o gráfico inclui, geralmente, uma linha de regressão. A dispersão dos pontos em torno da linha de regressão será um indicador de heterogeneidade. No gráfico (a) da Figura 4.3 quase todos os estudos favorecem o grupo de controlo, enquanto no gráfico (b) a maioria dos estudos são favoráveis ao grupo de tratamento. No gráfico (b) verifica-se maior dispersão dos pontos em torno da linha de regressão, o que indica a presença de heterogeneidade entre os estudos, ao contrário do que acontece no gráfico (a).

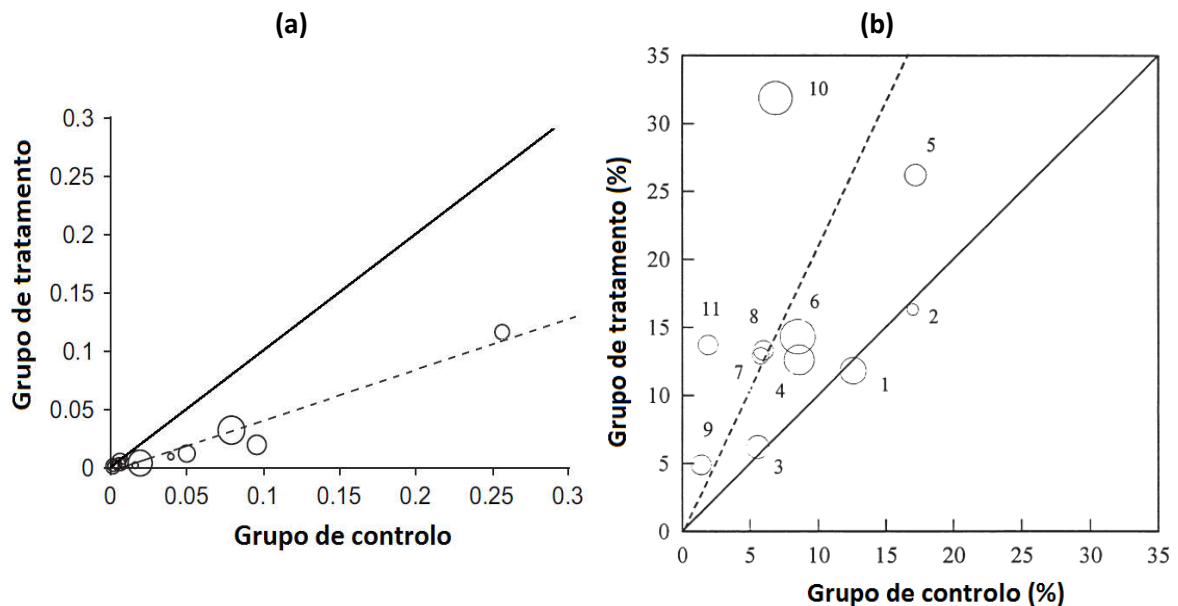


Figura 4.3 – Ilustrações de gráficos de *L'Abbé*. **(a)** Figura adaptada de Bax et al. (2008) [42]. **(b)** figura adaptada de Song (1999) [44].

Este método gráfico além de ser útil para verificar a presença de heterogeneidade, também poderá ser vantajoso na sua exploração, possibilitando a identificação de estudos com resultados diferentes de outros estudos. No entanto, as distâncias entre os pontos e a linha de regressão, usadas como indicador de heterogeneidade, devem ser padronizadas antes de fazer comparações para explorar essa heterogeneidade [44].

Como os dados, neste caso, não possuem informação sobre a precisão dos estudos, é aconselhável que o tamanho dos pontos usados no gráfico sejam proporcionais à precisão da estimativa do estudo. Tal como o diagrama de *Galbraith*, este gráfico permite o uso de diferentes símbolos (ou cores) para representar subgrupos diferenciados de estudos como meio para explorar a heterogeneidade.

Embora este tipo de gráfico seja mais usual em meta-análises com estudos de resultados binários, o mesmo princípio pode ser aplicado em meta-análises de qualquer tipo de estudo que compare dois grupos independentes. Por exemplo, em estudos com dados contínuos, podem representar-se as médias do grupo de tratamento em relação às do grupo de controlo [41].

5. Uma meta-análise

No âmbito desta dissertação foi desenvolvida uma meta-análise com o objetivo de avaliar a evolução da MIC (concentração mínima inibitória) de vancomicina em infecções por *methicillin-resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) e a existência de tendência ao longo do tempo, entre 2006 e 2016.

Em colaboração com os autores Raquel Diaz, Elmano Ramalheira, Vera Afreixo e Bruno Gago resultou, desta meta-análise, o artigo apresentado nesta dissertação. Esse artigo foi submetido à revista *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*.

5.1. Procedimentos aplicados

Estudos recentes têm fornecido informações inconsistentes acerca da evolução da MIC de vancomicina nos últimos anos. Alguns estudos relatam evidências da existência de crescimento ao longo do tempo, mas outros concluem que não foi possível detetar fenómeno de crescimento. Este estudo de meta-análise tem como objetivo clarificar essas inconsistências, avaliando de forma abrangente eventuais evidências de crescimento da MIC.

Pesquisa e seleção de estudos

Para a meta-análise foram pesquisados no PubMed estudos entre janeiro de 2006 e janeiro de 2016. A pesquisa foi feita por “*methicillin-resistant staphylococcus aureus*” OR “*Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus*”[Mesh]” OR “MRSA” AND “vancomycin” OR “vancomycin”[Mesh]” AND “minimal inhibitory concentration” OR “MIC” OR “MIC creep” OR “reduced vancomycin susceptibility” OR “vancomycin susceptibility trends”. Nesta pesquisa foram identificados 646 estudos, dos quais 550 foram excluídos, após análise do título e resumo, por não cumprirem os critérios de inclusão. Os restantes 96 estudos foram analisados e, destes, 50 foram incluídos na meta-análise.

Extração e organização de dados

Os 50 estudos incluídos para meta-análise foram lidos e analisados para extração de dados, com a colaboração das autoras Raquel Diaz e Vera Afreixo. Em cada estudo foi extraída informação sobre MIC de vancomicina, metodologia aplicada, número de colheitas e a respetivas fontes e anos, ano de conclusão do estudo e país. Este trabalho foi bastante moroso devido ao número de estudos incluídos, à dificuldade na interpretação de alguma informação reportada, a diferenças de estudo para estudo na informação reportada e à grande quantidade de informação a organizar. A

organização dos dados foi feita em folhas de cálculo do Microsoft Excel de forma a utilizar a sua ferramenta de meta-análise, o MetaXL.

Após a extração de dados verificaram-se diversas diferenças na informação reportada por cada estudo. Alguns estudos incluíam apenas informação sobre médias e desvios padrão, outros sobre mediana e extremos. Os valores e/ou intervalos de valores de MIC reportados também não eram semelhantes em todos os estudos, assim como os intervalos de tempo de recolha das amostras. Face a estas diferenças foram necessárias algumas decisões sobre procedimentos de uniformização de dados.

Uniformização de dados

- Nos estudos que reportavam apenas valores da mediana, máximo e mínimo, assumiu-se a simetria e estimou-se a média pela mediana.
- Para estimar o desvio-padrão considerou-se a distribuição uniforme e determinou-se $std = (max - min)/\sqrt{12}$.
- De forma a ser possível calcular as médias, desvios padrão e mínimos e completar o mais possível a tabela de dados os valores de MIC inferiores ou iguais a 0,5 mg/l foram convertidos em MIC de 0,5 mg/l.
- Os resultados dos estudos que se referiam a dois anos ou mais foram repartidos, uniformemente, pelos períodos a analisar.
- O período de tempo em estudo foi dividido em sete períodos de tempo obtendo-se a seguinte estratificação: <2000; 2000-2001; 2002-2003; 2004-2005; 2006-2007; 2008-2009 e ≥ 2010 .
- Para agregar os resultados de cada estudo por estes períodos de tempo foram calculadas médias ponderadas, variâncias combinadas e/ou frequências acumuladas.

A tabela de recolha de dados e a tabela obtida após os procedimentos de uniformização encontra-se disponível para consulta *online* em:

<http://sweet.ua.pt/vera/MIC%20Meta-analysis.html>.

Análise de dados

Observando os dados disponíveis optou-se pelo uso de duas medidas de efeito, a média da MIC de vancomicina e a proporção de observações com MIC de vancomicina superior ou igual a 2 mg/l, visto que as diretrizes do *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI) consideram que o *S. aureus* é suscetível à vancomicina para MIC's inferiores a 2 mg/l.

Foi avaliada a heterogeneidade entre os estudos usando o teste Q de *Cochran* e a estatística I^2 . Havendo evidências da existência de heterogeneidade entre os estudos foi aplicado o modelo de efeitos aleatórios, usando o método de *Dersimonian* e *Laird* para a determinação dos efeitos globais. No caso da proporção o efeito global foi calculado aplicando a transformação duplo arco-seno.

Considerando todos os estudos, agrupados por método de teste de MIC, de forma aos resultados serem comparáveis, foram calculadas as médias e as proporções combinadas para cada tipo de teste. Esta análise também permitiu verificar se existem diferenças significativas entre os resultados dos diferentes métodos de teste. Os resultados estão representados nas tabelas II e III do artigo.

Para avaliar a evolução da MIC ao longo do tempo determinou-se a média e a proporção combinada para cada um dos períodos de tempo definidos, considerando os métodos de teste BMD e Etest, por serem os mais usuais e, por conseguinte, incluírem mais estudos. Os resultados desta análise foram representados graficamente através de *bubble plots*, ou seja, diagramas de dispersão entre a medida de efeito e o período de tempo, em que os pontos se assemelham a bolhas de tamanho proporcional à precisão da medida (figuras 2, 3, 4 e 5 do artigo). Estes gráficos permitem fazer uma análise visual à evolução da média e da proporção ao longo dos períodos de tempo considerados.

Como um estudo secundário, foi ainda realizada uma análise de subgrupos, para a média e para a proporção, em quatro subgrupos de regiões: Europa, USA, Ásia e outros, considerando também os métodos de teste BMD e Etest. Os resultados desta análise foram apresentados em forest plots, para a média (figuras 6 e 7 do artigo) e, para a proporção, através de uma tabela (tabela 4 do artigo).

Após a meta-análise não se verificaram evidências estatísticas de fenómeno de aumento da MIC de vancomicina ao longo do tempo.

Os resultados e a discussão destas análises são expostos com mais pormenor no artigo apresentado a seguir.

Apenas a título de curiosidade foram calculadas a média e a proporção combinadas, com os estudos agrupados por tipo de teste de MIC, aplicando o método de heterogeneidade de variância inversa. Os resultados obtidos foram comparados com os resultados obtidos pelo método de Dersimonian e Laird (Tabela 5.1 e Tabela 5.2). É possível observar que, à exceção da proporção para o método BMD, todos os intervalos de confiança obtidos pelo método de heterogeneidade de variância inversa têm maior amplitude do que os obtidos pelo método de Dersimonian e Laird.

Tabela 5.1 – Resultados para a média combinada obtidos pelo método de heterogeneidade de variância inversa e pelo método de Dersimonian e Laird, por tipo de teste de MIC.

Método de teste de MIC	IVhet			DerSimonian-Laird			Número de estudos	Número de observações
	Média combinada	Intervalo de Confiança (95%)		Média combinada	Intervalo de Confiança (95%)			
		LI	LS		LI	LS		
BMD	0.92	0.76	1.08	1.20	1.13	1.28	16	10167
Etest	1.07	0.90	1.24	1.19	1.09	1.29	25	6983
Agar	1.17	0.94	1.41	1.25	1.06	1.43	4	1025
Automated system	0.94	0.56	1.32	1.06	0.77	1.36	5	1100

Tabela 5.2 – Resultados para a proporção combinada obtidos pelo método de heterogeneidade de variância inversa e pelo método de Dersimonian e Laird, por tipo de teste de MIC.

Método de teste de MIC	IVhet			DerSimonian-Laird			Número de estudos	Número de observações
	Proporção combinada	Intervalo de Confiança (95%)		Proporção combinada	Intervalo de Confiança (95%)			
		LI	LS		LI	LS		
BMD	0.08	0.02	0.15	0.18	0.12	0.25	16	10167
Etest	0.15	0.09	0.21	0.11	0.08	0.15	25	6983
Agar	0.20	0.03	0.41	0.28	0.12	0.48	4	1025
Automated system	0.20	0.00	0.47	0.15	0.01	0.37	5	1100

5.2. Artigo de meta-análise

Evaluation of vancomycin MIC Creep in *Staphylococcus aureus* infections – a meta-analysis

Author names:

Raquel Diaz, MSc
raqueldiaz@ua.pt
Department of Medical Sciences, University of Aveiro,
Institute of Biomedicine - iBiMED, University of Aveiro
3810-193 Aveiro, Portugal
Phone: +351 917 487 484

Elmano Ramalheira, MD
Elmano.ramalheira.11250@chbv.min-saude.pt
Department of Medical Sciences, University of Aveiro,
Department of Medical Microbiology, Centro Hospitalar Baixo Vouga, Av. Artur Ravara,
3814 – 501 Aveiro, Portugal
Phone: + 351 234 892 085

Vera Afreixo, PhD,
vera@ua.pt
Department of Mathematics, University of Aveiro;
Institute of Biomedicine - iBiMED, University of Aveiro
3810-193 Aveiro, Portugal
Phone: +351 234 370213

Carmen Rodrigues, MSc
carmenrodrigues@ua.pt
Department of Mathematics, University of Aveiro;
3810-193 Aveiro, Portugal
Phone: +351 234 370213

Bruno Gago, PharmD, PhD,
bmgago@ua.pt
Department of Medical Sciences, University of Aveiro,
Institute of Biomedicine - iBiMED, University of Aveiro
3810-193 Aveiro, Portugal
Phone: + 351 234 247 247

Corresponding author:

Raquel Diaz, MSc
raqueldiaz@ua.pt
Department of Medical Sciences, University of Aveiro,
Institute of Biomedicine - iBiMED, University of Aveiro
3810-193 Aveiro, Portugal
Phone: +351 917 487 484

Acknowledgments

This work was supported by Portuguese funds through the iBiMED – Institute of Biomedicine, IEETA - Institute of Electronics and Telematics Engineering of Aveiro and the Portuguese Foundation for Science and Technology (“FCT–Fundação para a Ciência e a Tecnologia”), within project COMPETE/FEDER UID/BIM/04501/2013.

Abstract

Vancomycin is currently the primary option treatment for methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). However, an increasing number of MRSA isolates with high minimum inhibitory concentrations (MICs), within the susceptible range (vancomycin MIC creep), are being reported worldwide.

Resorting to a meta-analysis approach, this study aims to comprehensively assess the evidence of vancomycin MIC creep, between 2006 and 2016. To accomplish this, studies between January 2006 and January 2016, were retrieved from Pubmed database. The inclusion criteria for study eligibility include the possibility of retrieving, from the reported data, values of vancomycin MIC and information concerning the applied MIC methodology.

The mean values of vancomycin MICs, of all *S. aureus* isolates reported in the studies included in the meta-analysis, were 1.19 mg/L and 1.20 mg/L determined by the Etest and BMD method, respectively. No significant differences were observed between these two methodologies. Considering the mean values of vancomycin MIC and the proportion of *S. aureus* isolates with vancomycin MIC ≥ 2 mg/L over time, the Spearman’s correlation coefficient results showed no evidence of MIC creep. In this meta-analysis, in which the trend of vancomycin MIC was evaluated, there was no statistically evidence of MIC creep phenomenon.

Key words

Staphylococcus aureus; vancomycin; MIC creep, meta-analysis

1. Introduction

Nowadays, *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) is one of the most common pathogen causing severe infections, including skin and soft tissue infections, pneumonia, bacteremia and endocarditis, either in community settings or hospitals [1]. Generally, these infections caused by methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) are associated with increased morbidity, longer antibiotic therapy, higher healthcare costs, prolonged hospitalization and increased risk of death [2].

The first antibiotic agent used for the treatment of invasive MRSA infections was glycopeptide vancomycin, which remains the gold standard approach in this context [3]. In addition, this antibiotic is used to treat serious Gram-positive infections in patients which are allergic to semi-synthetic penicillins or cephalosporins [4].

The utilization of vancomycin has been increasing continuously since mid 1980's, resulting in the emergence of MRSA with reduced susceptibility to vancomycin [2]. Recently, a phenomenon of gradual increase in the value of glycopeptides MIC (Minimal Inhibitory Concentration) for *S. aureus* was observed and reported in the literature as MIC creep [5]. The pool of publications related to MIC creep includes studies that report increases in the mean vancomycin MIC as well as studies that do not confirm these findings in MSRA [3].

In this context, and as a result of the reported vancomycin therapy failure in patient with *S. aureus* infections with a MIC ≥ 4 mg/L, the Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) reduced vancomycin breakpoints from ≤ 4 mg/L to ≤ 2 mg/L, for susceptible *S. aureus*, and from ≥ 32 mg/L to ≥ 16 mg/L for resistant *S. aureus*. These changes aimed to increase the sensitivity of the detection of non-susceptible isolates [3, 6]. The apparent increase in vancomycin MIC amongst MRSA, observed in recent years, can represent the first step towards the appearance of fully resistant isolates. Patients, from institution where MSRA isolates exhibit MIC creep, were associated to poor clinical outcomes, including delayed response, increased mortality, increased rate of relapse, extended hospitalization or overall increased cost of hospitalization [2, 6, 7].

Although new anti-staphylococcal antibiotics such as linezolid and daptomycin have been developed, vancomycin remains the therapeutic preference worldwide. However, and despite the *in vitro* susceptibility of MRSA strains to vancomycin, treatment failures are not uncommon. Recent studies reported reductions in the efficacy of vancomycin against MRSA strains, and suggested that subtle changes in the MIC may explain clinical failures [8]. Current literature provides inconsistent information about MIC creep phenomenon and conflicting results have been noted in cases in

which MIC creep could not be detected. Thus, in an attempt to clarify these inconsistencies, this study intended to comprehensively assess the evidence of MIC creep, using a meta-analysis.

2. Materials and Methods

2.1. Search Strategy and Selection Criteria

The studies to be included in the meta-analysis approach were retrieved from Pubmed database, from January 2006 to January 2016. Search query was “methicillin-resistant *staphylococcus aureus*” OR “Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*”[Mesh]” OR “MRSA” AND “vancomycin” OR “vancomycin”[Mesh]” AND “minimal inhibitory concentration” OR “MIC” OR “MIC creep” OR “reduced vancomycin susceptibility” OR “vancomycin susceptibility trends”.

The abstracts of the collected articles were reviewed and a study was considerable to be eligible for inclusion if it was written in English and included values of vancomycin MIC and details of the applied MIC methodologies. Selected MIC methodologies were: microdilution (BMD), Etest, agar diffusion and automated systems.

2.2. Data analysis

2.2.1. Data extraction

After the analysis of both titles and abstracts, the selected studies were independently assessed and analyzed thoroughly by three authors (R. Diaz, V. Afreixo and C. Rodrigues).

Data extracted from the identified studies included MIC vancomycin information applied methodology, number of studied isolates, source of isolate, year of study completion and country (supplementary material).

2.2.2. Data uniformization

In the cases of the studies that only report median, minimum (min) and maximum (max) values, it was assumed the symmetry and mean values were estimated from the median. To estimate the standard deviation (std), we assumed the uniform with a variable distribution and the $std = (max -$

min)/ $\sqrt{12}$. In order to complete the table of statistics (mean, std, min), all MIC values ≤ 0.5 were converted to 0.5.

In studies in which the results were grouped by periods of two years or more, the values were divided in a uniform manner by periods under review.

To create groups with similar numbers of effects, the following stratification of study years under analysis was selected, resulting in seven time strata: <2000; 2000-2001; 2002-2003; 2004-2005; 2006-2007; 2008-2009 and ≥ 2010 . To aggregate the results from different years, from the same study, weighted averages, combined variances and/or accumulated frequencies were used.

2.2.3. Statistical analysis

Homogeneity among studies was computed using the *Cochran's* Q statistic and the I^2 statistic. A significant Q statistic suggests that the distribution of effect sizes around the mean is greater than it would be predicted from sampling error alone. On the other hand, I^2 provides an estimate of the proportion of the variance in the aggregate effect size that is attributable to studies heterogeneity, with values of 0.25, 0.50, and 0.75 indicating low, moderate, and high degrees of heterogeneity.

In order to perform a secondary study, a subgroup analysis was carried out with the mean of vancomycin and the proportion of *S. aureus* isolates with vancomycin MIC ≥ 2 mg/L in four subgroups of regions: (i) Europe, (ii) USA, (iii) Asia and (iv) others. Due to the significant heterogeneity between the studies, the pooled prevalence for each group was estimated using the random-effects model.

To compare the pooled effect size in different groups (subgroups) the Z-test was used and for simultaneous statistical tests the Sidak correction was applied [9].

MetaXL 1.0, a tool for meta-analysis in Microsoft Excel, was used to pool individual prevalence from each study.

3. Results

Literature search, based on the keywords described in methods, identified 646 studies (figure 1). After title and abstract analysis, 550 were excluded and 96 full-text articles were reviewed, [1, 3, 5, 7, 8, 10-100]. Of these, 50 studies were included in the meta-analysis (table I), 46 were excluded

for the following reasons: data was included in other study of the same author (1 study) [84], no MIC data was available (26 studies) [11, 15, 16, 21, 22, 25, 27, 29, 31, 34, 37, 41, 46, 47, 52, 64, 65, 74, 76, 78, 79, 88, 89, 91, 93, 95], inappropriate MIC testing methodology was reported (1 study) [40], no full-text in English (8 studies) [10, 26, 32, 55, 59, 70, 86, 97], full-text versions unavailable (6 studies) [38, 61, 72, 77, 90, 100] and meta-analysis and review articles (4 studies) [7, 39, 50, 92].

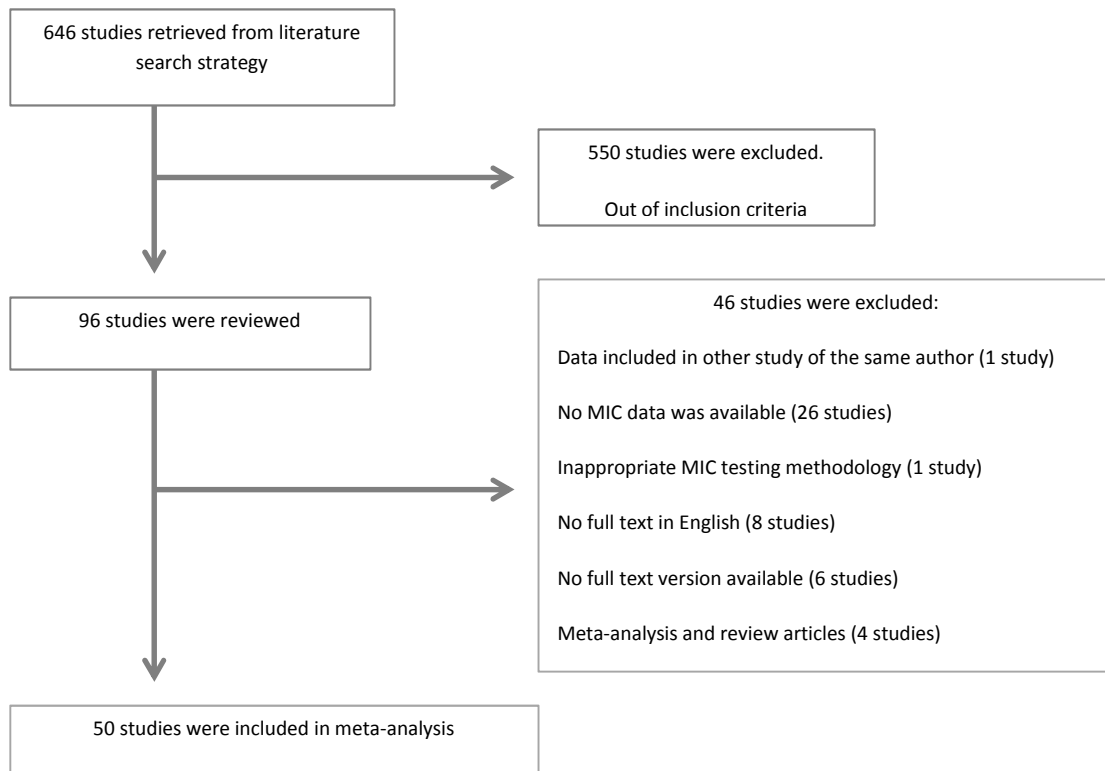


Figure 1: Results of literature search.

Some criteria were defined before starting the meta-analysis on the 50 included studies: 1) in studies that presented data of frozen isolates and data of “at time” isolates, data of “frozen isolates” was used because most of the studies determined CMIs in “frozen isolates” [54]; 2) in the case of studies with data of automated methods, only data of the automated method VITEK was

considered [17]; 3) studies by the same author and year were identified with A and B [17, 20, 24, 30]; 4) studies which included different cities were identified with A and B [3]; data presented in more than one study of the same author were excluded [20, 30].

Table I: Studies included in meta-analysis.

Study ref	Author(s)	Studied period	MIC testing methodology	Number of isolates	Country (es)	Statistics under study
[8]	Chang W (2015)	2006- 2010	BMD	980	China	Prop. / Mean
[12]	Amatya R (2014)	Sept 2012- April 2013	Agar	82	Nepal	Prop. / Mean
[13]	Cojutti P (2015)	2009 - 2013	BMD	582	Italy	Mean
[14]	Castón JJ (2014)	2010-2012	BMD	53	Spain	Prop.
[17]	Chen SY (2014)	2001-2011	Agar	394	Taiwan	Prop. / Mean
[18]	Cervera C (2014)	1995-1999, 2000-2011	Etest	93	Spain	Prop.*
[19]	Goldman JL (2014)	2006 – 2009	BMD, Etest, automated system	208	USA	Prop. / Mean
[20]	Sancak B (2013)	2009-2010	BMD, Etest	175	Turkey	Prop. / Mean
[23]	Wang JL (2013)	2005-2009	Etest	284	Taiwan	Prop.*
[5]	Tomczak H (2013)	2011	Etest, automated system	359	Poland	Prop. / Mean
[24]	Chen SY (2014)	2001-2011	Agar, Etest, automated system	393	Taiwan	Prop. / Mean
[28]	Guzek A (2013)	April- July 2011	E-test	113	Poland	Prop. / Mean
[30]	Sancak B (2013)	1999-2009	BMD, Etest	299	Turkey	Prop. / Mean
[33]	Zhuo C (2013)	2006 - 2011	BMD	1411	China	Prop. / Mean
[35]	Silvestre J (2013)	2007-2009	Etest	93	Portugal	Prop. / Mean
[36]	Khatib R (2013)	1996-1997, 2000-2003, 2005-2006	BMD, Etest	484	USA	Prop. / Mean
[42]	Han JH (2012)	Dec 2007-May 2009	BMD, Etest	392	USA	Prop. / Mean
[43]	Han JH (2012)	Dec 2007-May 2009	BMD, E-test	188	USA	Prop. / Mean
[44]	Wi YM (2012)	2009-2010	E-test	137	Korea	Prop. / Mean
[45]	Chong YP (2012)	June 2004 – June 2009	BMD	569	Korea	Prop. / Mean
[1]	Yeh YC (2012)	2001, 2005, 2009	Etest	140	Taiwan	Prop. / Mean
[48]	Rojas L (2012)	2005-2009	BMD, Etest	361	Spain	Prop. / Mean
[49]	Zhao C (2012)	2005 - 2010	Agar	2245	China	Prop. / Mean
[51]	Thati V (2011)	Mar - Out 2009	Agar	358	India	Prop.*
[53]	Honda H (2011)	July 2005 – July 2007	BMD	163	USA	Prop. / Mean
[54]	Edwards B (2012)	2006 - 2010	BMD, Etest, automated system	305	UK	Prop. / Mean
[56]	Clemens EC (2011)	April 2008 –Aug 2009	Etest	118	USA	Prop. / Mean

[57]	Sanctis JT (2011)	Oct 2006 - Dec 2007	Etest	99	USA	Prop. *
[58]	van Hal SJ (2011)	1997-2008	BMD, Etest, automated system	417	Australia	Prop. / Mean
[60]	Kao TM (2001)	Jan 2006 – Dec 2008	Agar	470	Taiwan	Prop. / Mean
[62]	Lubin AS (2011)	Jan 2001- Dec 2007	BMD	296	USA	Prop.*
[63]	Choi EY (2001)	Oct 2008 – Dec 2009	Etest	70	Korea	Prop.
[3]	Kehrmann J (2011)	2004 - 2009	Etest	287	Germany	Prop. / Mean
[66]	Kell RA (2010)	April – Aug 2009	BMD, Etest, automated system	298	USA	Prop. / Mean
[67]	Bland CM (2010)	Feb 2008 - Jan 2009	Etest, automated system	383	USA	Prop. / Mean
[68]	Machado DP (2010)	June 2009 - Feb2010	BMD, Etest	18	Brazil	Prop. / Mean
[69]	Haque NZ (2010)	Feb 2006 - Aug 2007	Etest	158	USA	Prop. / Mean
[71]	Wang JL (2010)	2006	BMD	123	Taiwan	Prop. / Mean
[73]	Ho PL (2010)	1997-1999, 2004, 2006-2008	Etest	247	China	Prop. / Mean
[75]	Patel N (2009)	Jan 2005 - May 2007	Etest	120	USA	Mean
[77]	Kuti JL (2009)	Nov 2005 – Aug 2007	Etest	58	USA	Prop. / Mean
[80]	Sader HS (2009)	2002-2006	BMD, Etest	1800	USA	Prop. / Mean
[81]	Musta AC (2009)	1996-1997, 2000-2006	E-test	489	USA	Prop. / Mean
[82]	Beeston CJ (2009)	April 2005 - Mar 2006	Agar	79	UK	Prop. / Mean
[84]	Lodise TP (2008)	Jan 2005 – May 2007	Etest	92	USA	Prop.
[85]	Alós JI (2008)	2002 – 2006	BMD	3140	Spain	Prop.
[87]	Soriano A (2008)	1991-1995, 1996-2000, 2001-2005	Etest	414	Spain	Prop. / Mean
[94]	Steinkraus G (2007)	2001 - 2005	Etest	662	USA	Prop. / Mean
[96]	Biedenbach DJ (2007)	2003-2004	BMD	1257	Australia, Hong Kong, Japan, Korea, Philippines, Singapore, Africa, Taiwan	Prop.
[98]	Wang G (2006)	2000 - 2004	BMD	6003	California, USA	Prop. / Mean

* MIC ≥ 2 is not available

Prop. = Proportion

Considering all the studies included in the pool (n=50), the mean of vancomycin MIC was 1.20 mg/L, 1.19 mg/L and 1.25 mg/L, when determined by the BMD method, Etest method and by the agar method, respectively. The pooled mean of vancomycin MIC determined resorting to the automated

method was inferior comparing with the values obtained with the other methods (1.06 mg/L) (table II). The differences between the studied MIC testing methods were not statistically significant (p values > 0.05, Z-test with Sidak correction for multiple comparisons).

Table II: Statistical results of pooled mean vancomycin MICs determined resorting to different MIC testing methodologies.

	MIC testing methodologies	Pooled mean	Confidence Interval (95%)		Spearman correlation	I ²	Number of independent studies	Number of samples
			Lower bound	Upper bound				
MRSA	BMD	1.20	1.13	1.28	-0.82	98.80	15	8145
	Etest	1.19	1.09	1.29	-0.57	99.59	25	7020
	Agar	1.25	1.06	1.43	-	97.52	4	1025
	Automated system	1.06	0.77	1.36	-	99.17	6	1249

Considering the pooled mean of vancomycin MIC over each time strata represented in figure 2 and 3, it was observed that studies before the year 2000 showed the highest vancomycin MICs pooled effect. Between the years 2000 and 2007 the vancomycin MICs seems to be more uniform. After the year 2007 vancomycin MIC showed a slight decreased (negative Spearman correlation) (table II). In general, the results were similar with BMD (figure 2) and Etest (figure 3) methods.

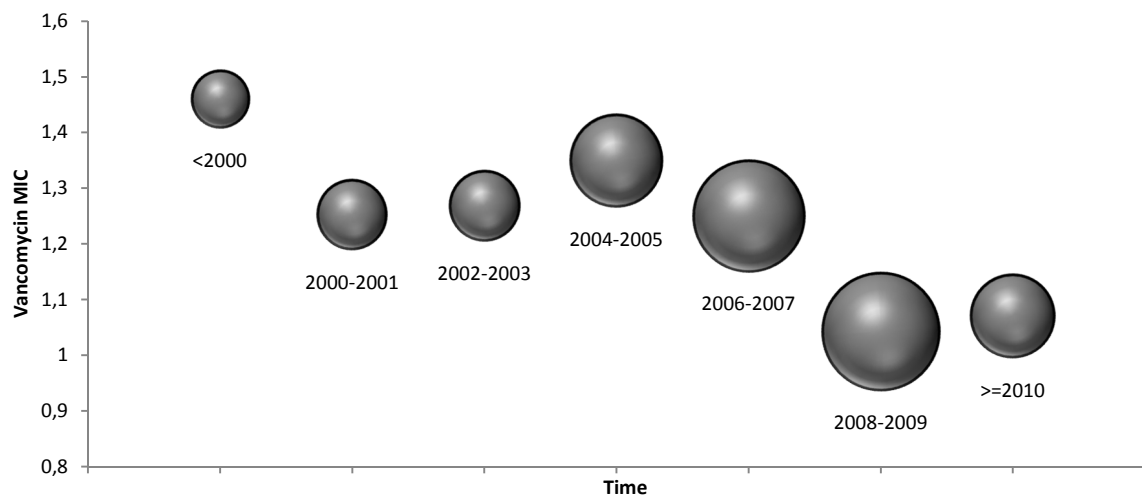


Figure 2: Pooled mean of vancomycin MIC determined by the BMD method over time.

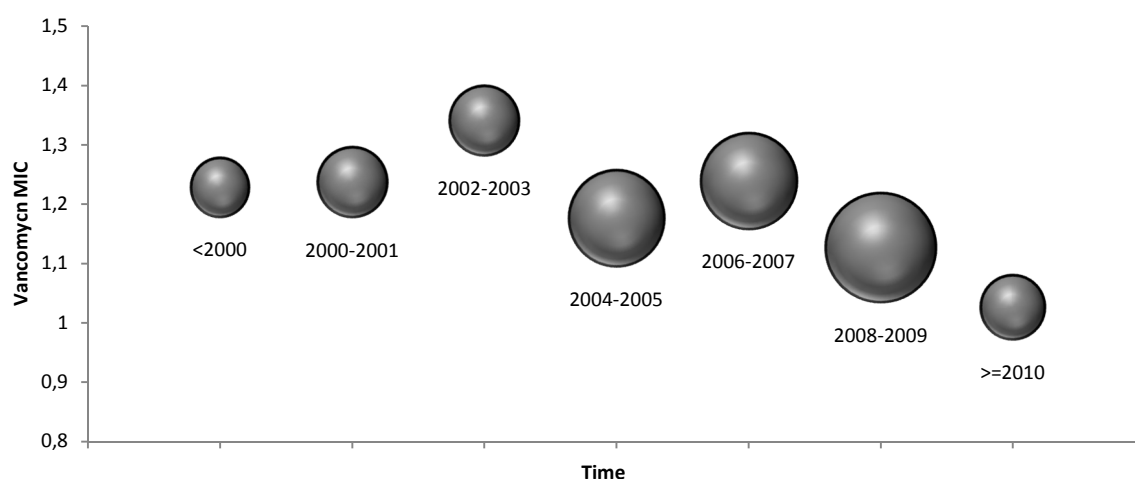


Figure 3: Pooled mean vancomycin MIC determined by the Etest method over time.

Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) guidelines consider that *S. aureus* is susceptible to vancomycin for MICs lower than 2 mg/L [101]. Considering this guideline, the pooled proportion of MRSA isolates with vancomycin MIC \geq 2 mg/L was evaluated and showed to be low, between 11% and 28%, for all the applied testing methods (table III).

Table III: Statistical results of pooled proportion the *S. aureus* isolates with vancomycin MIC \geq 2 mg/L determined resorting to different MIC testing methodologies.

	MIC testing methodologies	Pooled proportion	Confidence Interval (95%)		Spearman correlation	I ²	Number of independent studies	Number of samples
			Lower bound	Upper bound				
MRSA	BMD	0.18	0.12	0.25	-0.95	98.61	16	10167
	Etest	0.11	0.08	0.15	-0.75	95.50	25	6983
	Agar	0.28	0.12	0.48	-	97.07	4	1025
	Automated system	0.15	0.01	0.37	-	98.22	5	1100

The analysis of the distribution of MRSA isolates with vancomycin MIC \geq 2 mg/L showed a decrease over time, either with BMD (figure 4) or Etest (figure 5) methods. For the Etest method, a slight oscillation was observed between 2000 and 2007, followed by a tendency to decrease after 2007 (negative Spearman correlation) (table III).

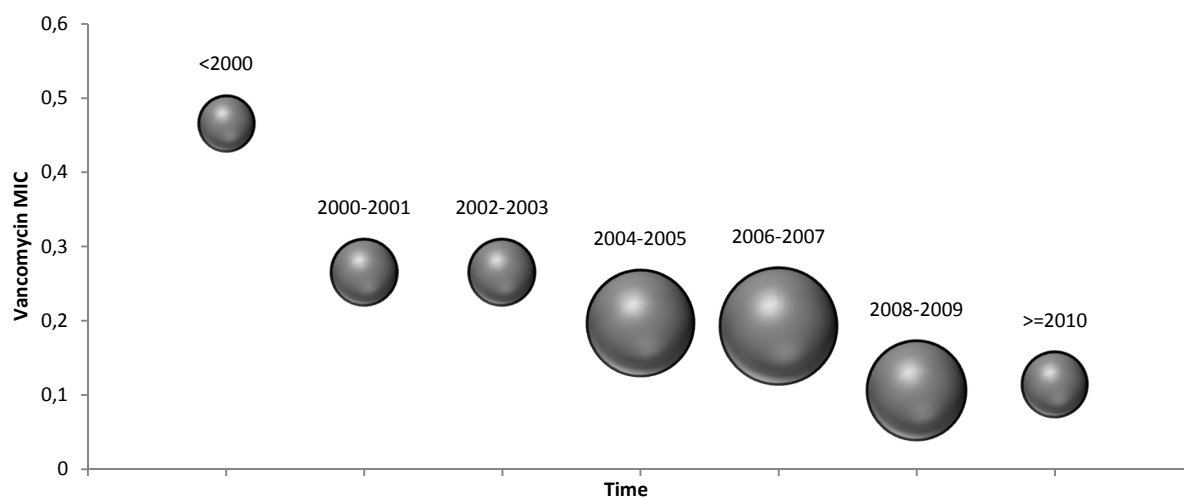


Figure 4: Pooled proportion of MRSA isolates with vancomycin MIC ≥ 2 mg/L determined with the BMD method.

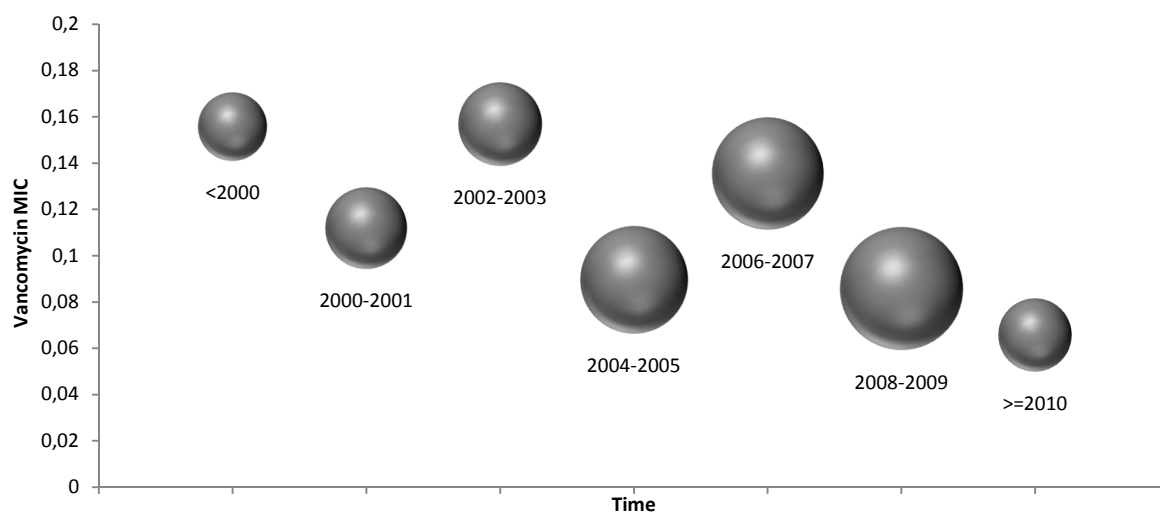


Figure 5: Pooled proportion of MRSA isolates with vancomycin MIC ≥ 2 mg/L determined with the Etest method.

Regarding the analysis of the pooled mean of vancomycin MIC by region, (Europe, USA, Asia and others countries), it was observed that in Europe, the pooled mean of vancomycin determined with both BMD and Etest method was 1.10 mg/L (figure 6 and 7). In Asia, the pooled mean of vancomycin determined with the BMD method was 1.17 mg/L (figure 6) and with the Etest method was 0.98

mg/L (figure 7). Regarding USA, these values are slightly increased, with values of 1.37mg/L and 1.49mg/L for the BMD method (figure 6) and Etest method (figure 7), respectively,

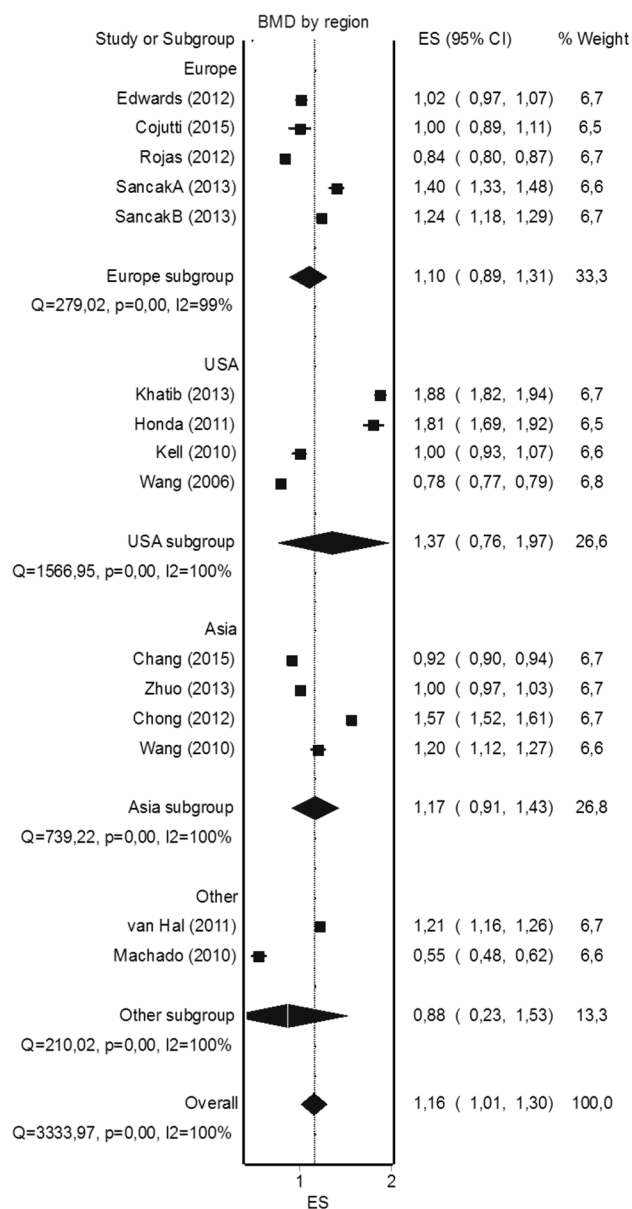


Figure 6: Pooled mean of vancomycin MIC of the studies included in meta-analysis, by region (BMD testing method).

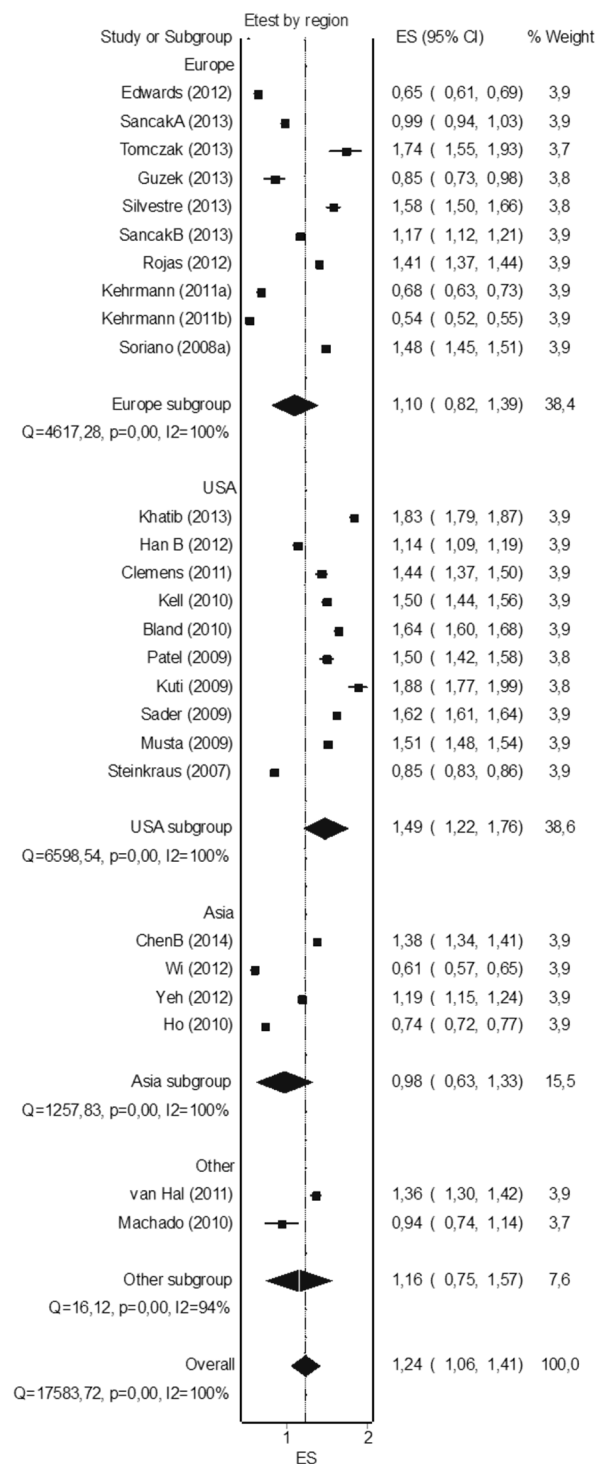


Figure 7: Pooled mean of vancomycin MIC of the studies included in meta-analysis, by region (Etest method).

By region, the proportion of MRSA isolates with vancomycin MIC ≥ 2 mg/L, was, 16% in Europe, 26% in USA and 18% in Asia, for BMD method and method 10% in Europe, 21% in USA and 3% in Asia for the Etest method (table IV).

Table IV: Statistical results of pooled proportion the MRSA isolates with vancomycin MIC ≥ 2 mg/L, by region.

MIC testing methodologies	Region	Pooled	Confidence Interval (95%)		I ²	Number of independent studies	Number of samples
			Lower bound	Upper bound			
BMD	Europe	0.16	0.04	0.33	99.61	4	1401
	USA	0.26	0.00	0.71		4	4518
	Asia	0.18	0.00	0.44		4	3235
	Other	0.18	0.00	0.42		2	435
Etest	Europe	0.10	0.03	0.19	98.68	9	1630
	USA	0.21	0.08	0.37		10	4272
	Asia	0.03	0.00	0.09		5	987
	Other	0.23	0.00	0.65		2	435

4. Discussion

During the past decade, MRSA became a problem for clinicians worldwide and vancomycin is a key antibiotic agent for the treatment of MRSA infections. Due to limited choices, clinicians have relied, for many years, on vancomycin for the management of serious MRSA infections and until 1996 there were no reports of decrease susceptibility to vancomycin among *S. aureus*, phenomenon that was reported for the first time in Japan [91, 102, 103]. Shortly after, two additional cases were reported from United States. However, first clinical isolate of vancomycin resistant *S. aureus* (VRSA) was reported from United States in 2002. [104]

Vancomycin MIC creep in *S. aureus* is a phenomenon whereby isolates with higher vancomycin MICs become more common over time, although the MICs still remain within the susceptible range of the drug [40]. In this context, studies reporting vancomycin MIC creep with MRSA have produced

conflicting results. Some studies report MIC creep over time but large multicenter surveillance studies do not relate similar findings over time [35, 80, 94].

The aim of our study was to comprehensively assess the evidence of MIC creep recurring to meta-analysis method. The sample includes single and large multicenter reports published in Pubmed database from January 2006 to January 2016.

The pooled mean of vancomycin MICs for all MRSA isolates reported with BMD and Etest methods were 1.20mg/L and 1.19mg/L, respectively and no significant differences were observed between these two methods. The number of strains studied with agar method was very low when compared with others methodologies, however the pooled mean of vancomycin MIC for this method (1.25 mg/L) was not significantly different. As expected, the pooled mean of vancomycin MIC determined with an automated method (1.06 mg/L) was lower than the ones determined with other methodologies studied. This result is consistent with other study that reports considerable differences between MIC of vancomycin for *S. aureus* assayed with the automated system and real MIC [5]. Although the correlation between methods remains poorly studied in the most data analyzing MIC values, the MICs assumed a measurement error of +1 dilution with automated methods [58].

The number of strains studied with automated methods was very low because the gold standard for measuring MIC remains broth microdilution (BMD). As this test is labour intensive, many laboratories use Etest method to measure MICs. So, in this study, MIC measurements by BMD and Etest methods were evaluated in detail.

When considering pooled mean of vancomycin MIC over time, it was showed that studies published before the year 2000 exhibited the highest vancomycin MICs and after 2007 the vancomycin MICs showed a slight decrease. The results were similar for the two selected MIC methods, BMD and Etest. Correlations between MIC testing methods effect and time strata were studied. The Spearman's correlation coefficient between Etest pooled values and the corresponding time class was -0.57 and between BMD pooled values and year class was -0.82, supporting the decreased observed over time (figure 2 and figure 3). Based on these results no evidence of MIC creep is observed. These findings are consistent with the results reported by a few studies that did not found trends in vancomycin MIC. Some examples are the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program database, where, between 1998 and 2003, 35,458 *S. aureus* isolates were studied [105], a multi-center study of nine US medical centers where 1800 MRSA samples were studied, between 1999 and 2006, [106] and a survey from Spain that, between 2002 and 2006, studied 3141 *S. aureus* isolates [85].

When analyzing MRSA isolates that reported vancomycin MIC ≥ 2 mg/L and comparing the two main testing methods under analysis the MRSA pooled proportion was very low (11 – 28%). Additionally, over time strata, both BMD and Etest methods show a decrease in vancomycin MIC, strengthening the observation of no evidence of MIC creep. Actually, correlations between MIC testing methods and time show a decrease over time (table III), as supported by the Spearman's correlation coefficient between BMD pooled proportion values and time strata (-0.95) and between Etest pooled proportion values and time strata (-0.75).

This study enabled also the evaluation of the pooled mean of vancomycin MIC by region. The results showed a pooled mean of vancomycin MIC lower in Europe and in USA the pooled mean of vancomycin MIC was slightly increased. Thinking that an increased value of vancomycin MIC was related with overall prevalence of MRSA, we can relate this values with the overall prevalence of the countries. The USA reported an overall prevalence of MRSA (55.9%), higher than in China with 46.8% [49]. In Europe, the countries with more prevalence was Romania (56%), Portugal (47.4%), Malta (42.7%), Greece (37.1%) and Italy (33.6%) [107] and in none of these countries were studies with evidence of MIC creep phenomenon.

Studies reporting vancomycin MIC creep with MRSA originated conflicting results most likely due to the applied MIC statistic method. Combining data from multiple centers can obscure trends that may exist within a given institution(s) or country, as a result of differences in patient populations and drug usage patterns. Although reports from large multicenter surveillance studies have not reported changes in vancomycin susceptibilities over time, the negative values of Spearman's correlation coefficient found in this study substantiate no evidences of vancomycin MIC creep over time. However, it is important to analyze the vancomycin MIC creep linked to a regional problem and evaluate local susceptibility profiles is essential for the local MRSA infection clinical management.

This study is the first meta-analysis evaluating the trends of vancomycin MIC determined with different MIC methods, in a worldwide perspective, including single and large multicenter studies. The performed meta-analysis evaluated the trend of vancomycin MIC over time, and no statistically evidence of MIC creep phenomenon was detected. These findings must be considered when interpreting vancomycin susceptibility and during the discussion of the need to find alternative antistaphylococcal agents for patients with elevated but susceptible vancomycin MIC values.

Supplementary material

It includes an Excel file with two data sheet. The first sheet contains the data sets of all studies under detailed analysis with the information obtained directly from each study and the second sheet contains each study results after the data uniformization procedure.

Funding

This study was supported by internal funding.

Transparency declarations

None to declare.

References

- [1] Yeh YC, Yeh KM, Lin TY, Chiu SK, Yang YS, Wang YC, et al. Impact of vancomycin MIC creep on patients with methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* bacteremia. *J Microbiol Immunol Infect.* 2012;45:214-20.
- [2] Dhand A, Sakoulas G. Reduced vancomycin susceptibility among clinical *Staphylococcus aureus* isolates ('the MIC Creep'): implications for therapy. *F1000 Med Rep.* 2012;4:1.
- [3] Kehrmann J, Kaase M, Szabados F, Gatermann SG, Buer J, Rath PM, et al. Vancomycin MIC creep in MRSA blood culture isolates from Germany: a regional problem? *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2011;30:677-83.
- [4] Rubinstein E, Keynan Y. Vancomycin revisited - 60 years later. *Front Public Health.* 2014;2.
- [5] Tomczak H, Szalek E, Blazejewska W, Myczko K, Horla A, Grzeskowiak E. The need to assay the real MIC when making the decision to eradicate *Staphylococcus aureus* with vancomycin. *Postepy Hig Med Dosw (Online).* 2013;67:921-5.
- [6] Rossatto FC, Proenca LA, Becker AP, Silveira AC, Caierao J, D'Azevedo PA. Evaluation of methods in detecting vancomycin MIC among MRSA isolates and the changes in accuracy related to different MIC values. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo.* 2014;56:469-72.
- [7] Kalil AC, Van Schooneveld TC, Fey PD, Rupp ME. Association between vancomycin minimum inhibitory concentration and mortality among patients with *Staphylococcus aureus* bloodstream infections: a systematic review and meta-analysis. *JAMA.* 2014;312:1552-64.

- [8] Chang W, Ma X, Gao P, Lv X, Lu H, Chen F. Vancomycin MIC creep in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) isolates from 2006 to 2010 in a hospital in China. *Indian J Med Microbiol.* 2015;33:262-6.
- [9] Borenstein M, Higgins JP. Meta-analysis and subgroups. *Prev Sci.* 2013;14:134-43.
- [10] Cikman A, Aydin M, Gulhan B, Parlak M, Gultepe B, Kalayci Y, et al. [Investigation of antibiotic resistance patterns and reduced vancomycin susceptibilities of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates: a multi-center study]. *Mikrobiyol Bul.* 2015;49:240-8.
- [11] Spagnolo AM, Orlando P, Panatto D, Amicizia D, Perdelli F, Cristina ML. *Staphylococcus aureus* with reduced susceptibility to vancomycin in healthcare settings. *J Prev Med Hyg.* 2014;55:137-44.
- [12] Amatya R, Devkota P, Gautam A. Reduced susceptibility to vancomycin in methicillin resistant *staphylococcus aureus*: a time for action. *Nepal Med Coll J.* 2014;16:42-4.
- [13] Cojutti P, Scarparo C, Sartor A, Coato P, Rigoli R, Pea F. A 5-year survey of antimicrobial susceptibility profiles of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) isolated from patients with bloodstream infections in Northeast Italy. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2015;81:53-6.
- [14] Caston JJ, Gonzalez-Gasca F, Porras L, Illescas S, Romero MD, Gijon J. High vancomycin minimum inhibitory concentration is associated with poor outcome in patients with methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* bacteremia regardless of treatment. *Scand J Infect Dis.* 2014;46:783-6.
- [15] Casapao AM, Davis SL, McRoberts JP, Lagnf AM, Patel S, Kullar R, et al. Evaluation of vancomycin population susceptibility analysis profile as a predictor of outcomes for patients with infective endocarditis due to methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob Agents Chemother.* 2014;58:4636-41.
- [16] Panomket P, Thirat S, Wanram S, Sranujit RP. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* with reduced susceptibility to vancomycin in Sanprasitthiprasong Hospital. *J Med Assoc Thai.* 2014;97 Suppl 4:S7-11.
- [17] Chen SY, Hsueh PR, Chiang WC, Huang EP, Lin CF, Chang CH, et al. Predicting high vancomycin minimum inhibitory concentration isolate infection among patients with community-onset methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* bacteraemia. *J Infect.* 2014;69:259-65.
- [18] Cervera C, Castaneda X, de la Maria CG, del Rio A, Moreno A, Soy D, et al. Effect of vancomycin minimal inhibitory concentration on the outcome of methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* endocarditis. *Clin Infect Dis.* 2014;58:1668-75.

- [19] Goldman JL, Harrison CJ, Myers AL, Jackson MA, Selvarangan R. No evidence of vancomycin minimal inhibitory concentration creep or heteroresistance identified in pediatric *Staphylococcus aureus* blood isolates. *Pediatr Infect Dis J*. 2014;33:216-8.
- [20] Sancak B, Yagci S, Gur D, Gulay Z, Ogunc D, Soyletir G, et al. Vancomycin and daptomycin minimum inhibitory concentration distribution and occurrence of heteroresistance among methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* blood isolates in Turkey. *BMC Infect Dis*. 2013;13:583.
- [21] McDanel PM, Spooner LM, Mohr JF, Belliveau PP. Use of daptomycin to treat infections with methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates having vancomycin minimum inhibitory concentrations of 1.5 to 2 µg/mL. *Ann Pharmacother*. 2013;47:1654-65.
- [22] Entenza JM, Betrisey B, Manuel O, Giddey M, Sakwinska O, Laurent F, et al. Rapid detection of *Staphylococcus aureus* strains with reduced susceptibility to vancomycin by isothermal microcalorimetry. *J Clin Microbiol*. 2014;52:180-6.
- [23] Wang JL, Lai CH, Lin HH, Chen WF, Shih YC, Hung CH. High vancomycin minimum inhibitory concentrations with heteroresistant vancomycin-intermediate *Staphylococcus aureus* in methicillin-resistant *S. aureus* bacteraemia patients. *Int J Antimicrob Agents*. 2013;42:390-4.
- [24] Chen SY, Liao CH, Wang JL, Chiang WC, Lai MS, Chie WC, et al. Method-specific performance of vancomycin MIC susceptibility tests in predicting mortality of patients with methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* bacteraemia. *J Antimicrob Chemother*. 2014;69:211-8.
- [25] Park SY, Oh IH, Lee HJ, Ihm CG, Son JS, Lee MS, et al. Impact of reduced vancomycin MIC on clinical outcomes of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* bacteremia. *Antimicrob Agents Chemother*. 2013;57:5536-42.
- [26] Yang W, He B, Ning YZ, Li Y. [The change and significance of vancomycin minimal inhibitory concentration against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates from inpatients with lower respiratory tract infection]. *Zhonghua Jie He He Hu Xi Za Zhi*. 2013;36:288-92.
- [27] Lepe JA, Dominguez-Herrera J, Pachon J, Aznar J. Determining accurate vancomycin MIC values for methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* by the microdilution method. *J Antimicrob Chemother*. 2014;69:136-8.
- [28] Guzek A, Korzeniewski K, Nitsch-Osuch A, Rybicki Z, Prokop E. In vitro susceptibility of *Staphylococci* and *Enterococci* to vancomycin and teicoplanin. *Adv Exp Med Biol*. 2013;788:125-32.
- [29] Hope R, Blackburn RM, Verlander NQ, Johnson AP, Kearns A, Hill R, et al. Vancomycin MIC as a predictor of outcome in MRSA bacteraemia in the UK context. *J Antimicrob Chemother*. 2013;68:2641-7.

- [30] Sancak B, Yagci S, Mirza HC, Hascelik G. Evaluation of vancomycin and daptomycin MIC trends for methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* blood isolates over an 11 year period. *J Antimicrob Chemother.* 2013;68:2689-91.
- [31] Huang CH, Chen YH. The detection and clinical impact of vancomycin MIC among patients with methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* bacteremia. *J Microbiol Immunol Infect.* 2013;46:315-6.
- [32] Kizilarslanoglu MC, Sancak B, Yagci S, Hascelik G, Unal S. [Evaluation of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* bacteremia and comparison of prognosis according to vancomycin MIC values: experience of the last ten years]. *Mikrobiyol Bul.* 2013;47:199-210.
- [33] Zhuo C, Xu YC, Xiao SN, Zhang GY, Zhong NS. Glycopeptide minimum inhibitory concentration creep among methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* from 2006-2011 in China. *Int J Antimicrob Agents.* 2013;41:578-81.
- [34] Holmes NE, Turnidge JD, Munckhof WJ, Robinson JO, Korman TM, O'Sullivan MV, et al. Vancomycin minimum inhibitory concentration, host comorbidities and mortality in *Staphylococcus aureus* bacteraemia. *Clin Microbiol Infect.* 2013;19:1163-8.
- [35] Joana S, Pedro P, Elsa G, Filomena M. Is vancomycin MIC creep a worldwide phenomenon? Assessment of *S. aureus* vancomycin MIC in a tertiary university hospital. *BMC Res Notes.* 2013;6:65.
- [36] Khatib R, Riederer K, Shemes S, Musta AC, Szpunar S. Correlation of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* vancomycin minimal inhibitory concentration results by Etest and broth microdilution methods with population analysis profile: lack of Etest overestimation of the MIC. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2013;32:803-6.
- [37] Abdelhady W, Bayer AS, Seidl K, Nast CC, Kiedrowski MR, Horswill AR, et al. Reduced vancomycin susceptibility in an in vitro catheter-related biofilm model correlates with poor therapeutic outcomes in experimental endocarditis due to methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob Agents Chemother.* 2013;57:1447-54.
- [38] Woods CJ, Chowdhury A, Patel VM, Shorr AF. Impact of vancomycin minimum inhibitory concentration on mortality among critically ill patients with methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* bacteremia. *Infect Control Hosp Epidemiol.* 2012;33:1246-9.
- [39] Jacob JT, DiazGranados CA. High vancomycin minimum inhibitory concentration and clinical outcomes in adults with methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections: a meta-analysis. *Int J Infect Dis.* 2013;17:e93-e100.

- [40] Reynolds R, Hope R, Warner M, MacGowan AP, Livermore DM, Ellington MJ. Lack of upward creep of glycopeptide MICs for methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) isolated in the UK and Ireland 2001-07. *J Antimicrob Chemother.* 2012;67:2912-8.
- [41] Vaudaux P, Ferry T, Uckay I, Francois P, Schrenzel J, Harbarth S, et al. Prevalence of isolates with reduced glycopeptide susceptibility in orthopedic device-related infections due to methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2012;31:3367-74.
- [42] Han JH, Mascitti KB, Edelstein PH, Bilker WB, Lautenbach E. Effect of reduced vancomycin susceptibility on clinical and economic outcomes in *Staphylococcus aureus* bacteremia. *Antimicrob Agents Chemother.* 2012;56:5164-70.
- [43] Han JH, Edelstein PH, Lautenbach E. Reduced vancomycin susceptibility and staphylococcal cassette chromosome *mec* (SCCmec) type distribution in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* bacteraemia. *J Antimicrob Chemother.* 2012;67:2346-9.
- [44] Wi YM, Kim JM, Joo EJ, Ha YE, Kang CI, Ko KS, et al. High vancomycin minimum inhibitory concentration is a predictor of mortality in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* bacteraemia. *Int J Antimicrob Agents.* 2012;40:108-13.
- [45] Chong YP, Park SJ, Kim HS, Kim ES, Kim MN, Kim SH, et al. In vitro activities of ceftobiprole, dalbavancin, daptomycin, linezolid, and tigecycline against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* blood isolates: stratified analysis by vancomycin MIC. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2012;73:264-6.
- [46] Calfee DP. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and vancomycin-resistant enterococci, and other Gram-positives in healthcare. *Curr Opin Infect Dis.* 2012;25:385-94.
- [47] Holmes NE, Johnson PD, Howden BP. Relationship between vancomycin-resistant *Staphylococcus aureus*, vancomycin-intermediate *S. aureus*, high vancomycin MIC, and outcome in serious *S. aureus* infections. *J Clin Microbiol.* 2012;50:2548-52.
- [48] Rojas L, Bunsow E, Munoz P, Cercenado E, Rodriguez-Creixems M, Bouza E. Vancomycin MICs do not predict the outcome of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* bloodstream infections in correctly treated patients. *J Antimicrob Chemother.* 2012;67:1760-8.
- [49] Zhao C, Sun H, Wang H, Liu Y, Hu B, Yu Y, et al. Antimicrobial resistance trends among 5608 clinical Gram-positive isolates in China: results from the Gram-Positive Cocci Resistance Surveillance program (2005-2010). *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2012;73:174-81.
- [50] van Hal SJ, Lodise TP, Paterson DL. The clinical significance of vancomycin minimum inhibitory concentration in *Staphylococcus aureus* infections: a systematic review and meta-analysis. *Clin Infect Dis.* 2012;54:755-71.

- [51] Thati V, Shivannavar CT, Gaddad SM. Vancomycin resistance among methicillin resistant *Staphylococcus aureus* isolates from intensive care units of tertiary care hospitals in Hyderabad. *Indian J Med Res.* 2011;134:704-8.
- [52] Chang HJ, Hsu PC, Yang CC, Siu LK, Kuo AJ, Chia JH, et al. Influence of teicoplanin MICs on treatment outcomes among patients with teicoplanin-treated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* bacteraemia: a hospital-based retrospective study. *J Antimicrob Chemother.* 2012;67:736-41.
- [53] Honda H, Doern CD, Michael-Dunne W, Jr., Warren DK. The impact of vancomycin susceptibility on treatment outcomes among patients with methicillin resistant *Staphylococcus aureus* bacteremia. *BMC Infect Dis.* 2011;11:335.
- [54] Edwards B, Milne K, Lawes T, Cook I, Robb A, Gould IM. Is vancomycin MIC "creep" method dependent? Analysis of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* susceptibility trends in blood isolates from North East Scotland from 2006 to 2010. *J Clin Microbiol.* 2012;50:318-25.
- [55] Pelitli TS, Cesur S, Kinikli S, Irmak H, Demiroz AP, Karakoc E. [Evaluation of vancomycin, teicoplanin, linezolid and tigecycline susceptibilities of nosocomial methicillin-resistant *Staphylococcus* strains by E-test]. *Mikrobiyol Bul.* 2011;45:758-61.
- [56] Clemens EC, Chan JD, Lynch JB, Dellit TH. Relationships between vancomycin minimum inhibitory concentration, dosing strategies, and outcomes in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* bacteremia. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2011;71:408-14.
- [57] de Sanctis JT, Swami A, Sawarynski K, Gerasymchuk L, Powell K, Robinson-Dunn B, et al. Is there a clinical association of vancomycin MIC creep, agr group II locus, and treatment failure in MRSA bacteremia? *Diagn Mol Pathol.* 2011;20:184-8.
- [58] van Hal SJ, Barbogiannakos T, Jones M, Wehrhahn MC, Mercer J, Chen D, et al. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* vancomycin susceptibility testing: methodology correlations, temporal trends and clonal patterns. *J Antimicrob Chemother.* 2011;66:2284-7.
- [59] Kuscu F, Ozturk DB, Gurbuz Y, Tutuncu EE, Sencan I, Gul S. [Investigation of reduced vancomycin susceptibility in methicillin-resistant staphylococci]. *Mikrobiyol Bul.* 2011;45:248-57.
- [60] Kao TM, Wang JT, Weng CM, Chen YC, Chang SC. In vitro activity of linezolid, tigecycline, and daptomycin on methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* blood isolates from adult patients, 2006-2008: stratified analysis by vancomycin MIC. *J Microbiol Immunol Infect.* 2011;44:346-51.
- [61] Laible BR, Hellwig TR, Hedge DD. Susceptibility of *Staphylococcus aureus* to vancomycin: analysis of minimum inhibitory concentrations in two tertiary care hospitals in eastern South Dakota. *S D Med.* 2011;64:91-5.

- [62] Lubin AS, Snyderman DR, Ruthazer R, Bide P, Golan Y. Predicting high vancomycin minimum inhibitory concentration in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* bloodstream infections. *Clin Infect Dis*. 2011;52:997-1002.
- [63] Choi EY, Huh JW, Lim CM, Koh Y, Kim SH, Choi SH, et al. Relationship between the MIC of vancomycin and clinical outcome in patients with MRSA nosocomial pneumonia. *Intensive Care Med*. 2011;37:639-47.
- [64] Traverso F, Peluffo M, Louge M, Funaro F, Suasnabar R, Cepeda R. [Impact of methicillin resistance on mortality and surveillance of vancomycin susceptibility in bacteremias caused by *Staphylococcus aureus*]. *Rev Argent Microbiol*. 2010;42:274-8.
- [65] Bukhari SZ, Ahmed S, Zia N. Antimicrobial susceptibility pattern of *Staphylococcus aureus* on clinical isolates and efficacy of laboratory tests to diagnose MRSA: a multi-centre study. *J Ayub Med Coll Abbottabad*. 2011;23:139-42.
- [66] Keel RA, Sutherland CA, Aslanzadeh J, Nicolau DP, Kuti JL. Correlation between vancomycin and daptomycin MIC values for methicillin-susceptible and methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* by 3 testing methodologies. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2010;68:326-9.
- [67] Bland CM, Porr WH, Davis KA, Mansell KB. Vancomycin MIC susceptibility testing of methicillin-susceptible and methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates: a comparison between Etest(R) and an automated testing method. *South Med J*. 2010;103:1124-8.
- [68] Machado DP, Nagel F, Aquino VR, de Souza Martins D, Nazario R, Goldani LZ, et al. Vancomycin minimal inhibitory concentration from broth microdilution and Etest in respiratory tract samples of patients with ventilation-associated pneumonia. *J Hosp Infect*. 2010;76:182-4.
- [69] Haque NZ, Zuniga LC, Peyrani P, Reyes K, Lamerato L, Moore CL, et al. Relationship of vancomycin minimum inhibitory concentration to mortality in patients with methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* hospital-acquired, ventilator-associated, or health-care-associated pneumonia. *Chest*. 2010;138:1356-62.
- [70] Aktas E, Mengeloglu FZ, Kulah C, Comert FB. [Evaluation of reduced susceptibility to vancomycin among MRSA strains isolated from clinical specimens]. *Mikrobiyol Bul*. 2010;44:339-41.
- [71] Wang JL, Wang JT, Sheng WH, Chen YC, Chang SC. Nosocomial methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) bacteremia in Taiwan: mortality analyses and the impact of vancomycin, MIC = 2 mg/L, by the broth microdilution method. *BMC Infect Dis*. 2010;10:159.

- [72] Zheng X, Qi C, Arrieta M, O'Leary A, Wang D, Shulman ST. Lack of increase in vancomycin resistance of pediatric methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* Isolates from 2000 to 2007. *Pediatr Infect Dis J*. 2010;29:882-4.
- [73] Ho PL, Lo PY, Chow KH, Lau EH, Lai EL, Cheng VC, et al. Vancomycin MIC creep in MRSA isolates from 1997 to 2008 in a healthcare region in Hong Kong. *J Infect*. 2010;60:140-5.
- [74] Tiwari HK, Das AK, Sapkota D, Sivrajan K, Pahwa VK. Methicillin resistant *Staphylococcus aureus*: prevalence and antibiogram in a tertiary care hospital in western Nepal. *J Infect Dev Ctries*. 2009;3:681-4.
- [75] Patel N, Lubanski P, Ferro S, Bonafede M, Harrington S, Evans A, et al. Correlation between vancomycin MIC values and those of other agents against gram-positive bacteria among patients with bloodstream infections caused by methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob Agents Chemother*. 2009;53:5141-4.
- [76] Pillai SK, Wennersten C, Venkataraman L, Eliopoulos GM, Moellering RC, Karchmer AW. Development of reduced vancomycin susceptibility in methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus*. *Clin Infect Dis*. 2009;49:1169-74.
- [77] Kuti JL, Nicasio AM, Sutherland CA, Nicolau DP. Elevated vancomycin minimum inhibitory concentrations among methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolated from patients with ventilator-associated pneumonia at a Connecticut hospital. *Conn Med*. 2009;73:337-40.
- [78] Marais E, Aithma N, Perovic O, Oosthuysen WF, Musenge E, Duse AG. Antimicrobial susceptibility of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates from South Africa. *S Afr Med J*. 2009;99:170-3.
- [79] Horne KC, Howden BP, Grabsch EA, Graham M, Ward PB, Xie S, et al. Prospective comparison of the clinical impacts of heterogeneous vancomycin-intermediate methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) and vancomycin-susceptible MRSA. *Antimicrob Agents Chemother*. 2009;53:3447-52.
- [80] Sader HS, Rhomberg PR, Jones RN. Nine-hospital study comparing broth microdilution and Etest method results for vancomycin and daptomycin against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob Agents Chemother*. 2009;53:3162-5.
- [81] Musta AC, Riederer K, Shemes S, Chase P, Jose J, Johnson LB, et al. Vancomycin MIC plus heteroresistance and outcome of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* bacteremia: trends over 11 years. *J Clin Microbiol*. 2009;47:1640-4.
- [82] Beeston CJ, Gupta R, Chadwick PR, Young RJ. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* bacteraemia and mortality in a teaching hospital. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2009;28:585-90.

- [83] Lodise TP, Miller CD, Graves J, Evans A, Graffunder E, Helmecke M, et al. Predictors of high vancomycin MIC values among patients with methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* bacteraemia. *J Antimicrob Chemother.* 2008;62:1138-41.
- [84] Lodise TP, Graves J, Evans A, Graffunder E, Helmecke M, Lomaestro BM, et al. Relationship between vancomycin MIC and failure among patients with methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* bacteremia treated with vancomycin. *Antimicrob Agents Chemother.* 2008;52:3315-20.
- [85] Alos JI, Garcia-Canas A, Garcia-Hierro P, Rodriguez-Salvanes F. Vancomycin MICs did not creep in *Staphylococcus aureus* isolates from 2002 to 2006 in a setting with low vancomycin usage. *J Antimicrob Chemother.* 2008;62:773-5.
- [86] Hosgor Limoncu M, Ermertcan S, Tasli H, Kurutepe S. [Investigation of glycopeptide resistance in methicillin resistant staphylococcal isolates]. *Mikrobiyol Bul.* 2007;41:511-6.
- [87] Soriano A, Marco F, Martinez JA, Pisos E, Almela M, Dimova VP, et al. Influence of vancomycin minimum inhibitory concentration on the treatment of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* bacteremia. *Clin Infect Dis.* 2008;46:193-200.
- [88] Bennett JW, Murray CK, Holmes RL, Patterson JE, Jorgensen JH. Diminished vancomycin and daptomycin susceptibility during prolonged bacteremia with methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2008;60:437-40.
- [89] Chi CY, Lauderdale TL, Wang SM, Wu JM, Yang YJ, Liu CC. Health care-associated endocarditis caused by *Staphylococcus aureus* with reduced susceptibility to vancomycin. *J Clin Microbiol.* 2008;46:810-3.
- [90] Lewis JS, 2nd, Ellis MW. Approaches to serious methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections with decreased susceptibility to vancomycin: clinical significance and options for management. *Curr Opin Infect Dis.* 2007;20:568-73.
- [91] Neoh HM, Hori S, Komatsu M, Oguri T, Takeuchi F, Cui L, et al. Impact of reduced vancomycin susceptibility on the therapeutic outcome of MRSA bloodstream infections. *Ann Clin Microbiol Antimicrob.* 2007;6:13.
- [92] Appelbaum PC. Reduced glycopeptide susceptibility in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). *Int J Antimicrob Agents.* 2007;30:398-408.
- [93] Fitzgibbon MM, Rossney AS, O'Connell B. Investigation of reduced susceptibility to glycopeptides among methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates from patients in Ireland and evaluation of agar screening methods for detection of heterogeneously glycopeptide-intermediate *S. aureus*. *J Clin Microbiol.* 2007;45:3263-9.

- [94] Steinkraus G, White R, Friedrich L. Vancomycin MIC creep in non-vancomycin-intermediate *Staphylococcus aureus* (VISA), vancomycin-susceptible clinical methicillin-resistant *S. aureus* (MRSA) blood isolates from 2001-05. *J Antimicrob Chemother.* 2007;60:788-94.
- [95] Graber CJ, Wong MK, Carleton HA, Perdreau-Remington F, Haller BL, Chambers HF. Intermediate vancomycin susceptibility in a community-associated MRSA clone. *Emerg Infect Dis.* 2007;13:491-3.
- [96] Biedenbach DJ, Bell JM, Sader HS, Fritsche TR, Jones RN, Turnidge JD. Antimicrobial susceptibility of Gram-positive bacterial isolates from the Asia-Pacific region and an in vitro evaluation of the bactericidal activity of daptomycin, vancomycin, and teicoplanin: a SENTRY Program Report (2003-2004). *Int J Antimicrob Agents.* 2007;30:143-9.
- [97] Murata T, Otani K. [Nosocomial infection caused by multidrug-resistant *Staphylococcus aureus* with reduced susceptibility to vancomycin and teicoplanin.--Yamagata Prefecture, Japan; May 2004-Jun 2005]. *Kansenshogaku Zasshi.* 2007;81:183-8.
- [98] Wang G, Hindler JF, Ward KW, Bruckner DA. Increased vancomycin MICs for *Staphylococcus aureus* clinical isolates from a university hospital during a 5-year period. *J Clin Microbiol.* 2006;44:3883-6.
- [99] Webster D, Rennie RP, Brosnikoff CL, Chui L, Brown C. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* with reduced susceptibility to vancomycin in Canada. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2007;57:177-81.
- [100] Bhat G, Kamath S, Hussain A. Nosocomial methicillin--resistant *Staphylococcus aureus* with reduced susceptibility to vancomycin. *Indian J Pathol Microbiol.* 2006;49:311-2.
- [101] Clinical and Laboratory Standards Institute C. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twenty-Fourth Informational Supplement 2014.
- [102] Howden BP, Davies JK, Johnson PD, Stinear TP, Grayson ML. Reduced vancomycin susceptibility in *Staphylococcus aureus*, including vancomycin-intermediate and heterogeneous vancomycin-intermediate strains: resistance mechanisms, laboratory detection, and clinical implications. *Clin Microbiol Rev.* 2010;23:99-139.
- [103] Moise PA, North D, Steenbergen JN, Sakoulas G. Susceptibility relationship between vancomycin and daptomycin in *Staphylococcus aureus*: facts and assumptions. *Lancet Infect Dis.* 2009;9:617-24.
- [104] Limbago BM, Kallen AJ, Zhu W, Eggers P, McDougal LK, Albrecht VS. Report of the 13th vancomycin-resistant *Staphylococcus aureus* isolate from the United States. *J Clin Microbiol.* 2014;52:998-1002.

[105] Jones RN. Microbiological features of vancomycin in the 21st century: minimum inhibitory concentration creep, bactericidal/static activity, and applied breakpoints to predict clinical outcomes or detect resistant strains. *Clin Infect Dis*. 2006;1:S13-24.

[106] Sader HS, Fey PD, Limaye AP, Madinger N, Pankey G, Rahal J, et al. Evaluation of vancomycin and daptomycin potency trends (MIC creep) against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates collected in nine U.S. medical centers from 2002 to 2006. *Antimicrob Agents Chemother*. 2009;53:4127-32.

[107] (ECDC) ECfDPaC. European Centre for Disease Prevention and Control 2014.

6. Conclusão

A meta-análise é uma análise estatística utilizada para combinar e sumariar os resultados de vários estudos relacionados. Devido às suas diversas aplicações, esta forma de sintetizar informações de vários estudos tem visto a sua importância aumentar, em particular na área da saúde, onde é comum encontrar diversos estudos sobre uma mesma questão de pesquisa.

Contudo, como qualquer outra área de investigação, a meta-análise deve ser um processo rigoroso, fazendo parte de uma revisão sistemática bem planeada.

Ao longo desta dissertação foram apresentados alguns procedimentos e métodos utilizados no desenvolvimento de uma meta-análise. No entanto, existem outros procedimentos importantes que não foram aqui desenvolvidos, como por exemplo, análise de sensibilidade, análise do viés de publicação e meta-regressão.

O estudo de meta-análise e revisão sistemática desenvolvido no contexto desta dissertação resultou de um trabalho conjunto, com o objetivo de caracterizar a evolução da MIC de vancomicina ao longo do tempo, aplicando alguns dos procedimentos e métodos expostos. Após a conclusão do estudo de meta-análise e avaliando a tendência da média da MIC de vancomicina e da proporção de observações com valores de MIC superiores ou iguais a 2 mg/l, conclui-se que não há evidência estatística de aumento da MIC ao longo do tempo.

Com a elaboração de todo este trabalho foi possível ficar a conhecer apenas alguns dos principais procedimentos e métodos a ter em conta no desenvolvimento de uma meta-análise no contexto de uma revisão sistemática. Contudo, a extensão desta área de investigação deixa a sensação de que tanto ficou por explorar. Como tal, seria pertinente, como trabalho futuro, aprofundar procedimentos de meta-análise que não foram aqui explorados. Para além disso, com os diferentes métodos que têm sido propostos ao longo do tempo, sobretudo para meta-análise de efeitos aleatórios, seria importante fazer uma análise exaustiva dos diversos métodos existentes e proceder a uma comparação através de situações controladas.

Referências

- [1] T. S. Baguley, "Online Supplement 1 - Meta-analysis," 2012. [Online]. Available: <https://he.palgrave.com/resources/Product-Page-Downloads/B/Baguley-Serious-Stats/supplements.zip>. [Acedido em 2016].
- [2] G. V. Glass, "Primary, Secondary, and Meta-Analysis of Research," *Educational Researcher*, vol. 5, pp. 3-8, 1976.
- [3] J. A. Kulik e C.-L. C. Kulik, "The Concept of Meta-Analysis," *International Journal of Educational Research*, vol. 13 (3), pp. 227-340, 1989.
- [4] M. Borenstein, L. Hedges, J. Higgins e H. Rothstein, *Introduction to Meta-Analysis*, Chichester: John Wiley & Sons, 2009.
- [5] A. Whitehead, *Meta-Analysis of Controlled Clinical Trials*, Chichester: John Wiley & Sons, 2002.
- [6] M. Pocinho, "Lições de Meta-Análise, 2008," 2013. [Online]. Available: http://docentes.ismt.pt/~m_pocinho/Licoes_de_revisao_sistematica_e_metanalise.pdf. [Acedido em 2016].
- [7] M. Egger, G. D. Smith e A. N. Phillips, "Meta-Analysis: Principles and Procedures," *BMJ: British Medical Journal*, vol. 315, pp. 1533-1537, 1997.
- [8] M. Egger, G. D. Smith e D. G. Altman, *Systematic Reviews in Health Care - Meta-Analysis in Context*, London: BMJ Books, 2001.
- [9] M. Ebell e H. Barry, "Evidence-Based Medicine Course," OMERAD - the Office of Medical Education Research and Development, 2008. [Online]. Available: <http://omerad.msu.edu/ebm/Meta-analysis/Meta1.html>. [Acedido em 2016].
- [10] M. C. Reade, A. Delaney, M. J. Bailey e D. C. Angus, "Bench-to-Bedside Review: Avoiding Pitfalls in Critical Care Meta-Analysis — Funnel Plots, Risk Estimates, Types of Heterogeneity, Baseline Risk and the Ecologic Fallacy," *Critical Care*, vol. 12, pp. 220-227, 2008.
- [11] M. R. d. Sousa e A. L. P. Ribeiro, "Revisão Sistemática e Meta-análise de Estudos de Diagnóstico e Prognóstico: um Tutorial," *Arquivo Brasileiro de Cardiologia*, vol. 92 (3), pp. 229-238, 2009.
- [12] J. P. Ioannidis e T. A. Trikalinos, "The Appropriateness of Asymmetry Tests for Publication Bias in Meta-Analyses: a Large Survey," *CMAJ*, vol. 176 (8), pp. 1091-1096, 2007.

- [13] J. P. Higgins e S. Green, "Cochrane Handbook for Systematic Reviews of Interventions," The Cochrane Collaboration, 2011. [Online]. Available: <http://handbook.cochrane.org>. [Acedido em 2016].
- [14] D. B. Wilson, "Calculating Effect-Sizes," 2011. [Online]. Available: www.campbellcollaboration.org/.../2_D_Wilson__Calculating_ES.pdf. [Acedido em 2016].
- [15] J. H. Littell, J. Corcoran e V. Pillai, *Systematic Reviews and Meta-Analysis*, New York: Oxford University Press, 2008.
- [16] J. J. Barendregt, S. A. Doi, Y. Y. Lee, R. E. Norman e T. Vos, "Meta-Analysis of Prevalence," *Epidemiol Community Health*, vol. 67, pp. 974-978, 2013.
- [17] M. Borenstein, L. Hedges e H. Rothstein, "Meta-Analysis: Fixed Effect vs. Random Effects," 2007. [Online]. Available: <https://www.meta-analysis.com/downloads/Meta-analysis%20fixed%20effect%20vs%20random%20effects.pdf>. [Acedido em 2016].
- [18] R. DerSimonian e R. Kacher, "Random-Effects Model for Meta-Analysis of Clinical Trials: An Update," *Contemporary Clinical Trials*, vol. 28, pp. 105-114, 2007.
- [19] C. Rodrigues e P. Ziegelmann, "Metanálise: Um Guia Prático," *Revista HCPA*, vol. 30 (4), pp. 436-447, 2010.
- [20] K. J. Rothman, S. Greenland e T. L. Lash, *Modern Epidemiology*, 3rd Edition, Philadelphia: Lippincott, Williams & Wilkins, 2008.
- [21] T. Sato, "On the Variance Estimator for the Mantel-Haenszel Risk Difference (letter)," *Biometrics*, pp. 1323-1324, 1989.
- [22] G. Leandro, *Meta-analysis in Medical Research: The Handbook for the Understanding and Practice of Meta-Analysis*, Malden, Massachusetts: BMJ Books, 2005.
- [23] D. B. Petitti, *Meta-Analysis, Decision Analysis and Cost-Effectiveness Analysis - Methods for Quantitative Synthesis in Medicine*, New York: Oxford University Press, 2000.
- [24] R. DerSimonian e N. Laird, "Meta-Analysis in Clinical Trials," *Controlled Clinical Trials*, pp. 177-188, 1986.
- [25] W. G. Cochran, *Planning and Analysis of Observational Studies*, New York: John Wiley & Sons, 1983.
- [26] R. J. Hardy e S. G. Thompson, "A Likelihood Approach to Meta-Analysis With Random Effects," *Statistics in Medicine*, vol. 15, pp. 619-629, 1996.

- [27] S. E. Brockwell e I. R. Gordon, "A Comparison of Statistical Methods for Meta-Analysis," *Statistics in Medicine*, vol. 20, p. 825–840, 2001.
- [28] S. A. R. Doi e L. Thalib, "A Quality-Effects Model for Meta-Analysis," *Epidemiology*, vol. 19, pp. 94-100, January 2008.
- [29] S. A. R. Doi e L. Thalib, "An Alternative Quality Adjustor for the Quality Effects Model for Meta-Analysis," *Epidemiology*, vol. 20, p. 314, March 2009.
- [30] S. A. R. Doi, J. J. Barendregt, S. Khan, L. Thalib e G. M. Williams, "Advances in the Meta-Analysis of Heterogeneous Clinical Trials II: The Quality Effects Model," *Contemporary Clinical Trials*, vol. 45, pp. 123-129, 2015.
- [31] S. A. R. Doi, J. J. Barendregt, S. Khan, L. Thalib e G. M. Williams, "Simulation Comparison of Quality Effects and Random Effects Methods of Meta-Analysis," *Epidemiology*, vol. 26, pp. 42-43, July 2015.
- [32] S. A. R. Doi, J. J. Barendregt, S. Khan, L. Thalib e G. M. Williams, "Advances in the Meta-Analysis of Heterogeneous Clinical Trials I: The Inverse Variance Heterogeneity Model," *Contemporary Clinical Trials*, vol. 45, pp. 130-138, 2015.
- [33] E. Kulinskaya e I. Olkin, "An Overdispersion Model in Meta-Analysis," *Statistical Modelling*, vol. 14, pp. 49-76, 2014.
- [34] B. J. Biggerstaff e R. L. Tweedie, "Incorporating Variability in Estimates of Heterogeneity in the Random Effects Model in Meta-Analysis," *Statistics in Medicine*, vol. 16, p. 753–768, 1997.
- [35] S.-L. Normand, "Tutorial in Biostatistics Meta-Analysis: Formulating, Evaluating, Combining and Reporting," *Statistics in Medicine*, vol. 18, pp. 321-359, 1999.
- [36] K. Sidik e J. N. Jonkman, "A Simple Confidence Interval for Meta-Analysis," *Statistics in Medicine*, vol. 21, pp. 3153-3159, 2002.
- [37] M. Henmi e J. B. Copas, "Confidence Intervals for Random Effects Meta-Analysis and Robustness to Publication Bias," *Statistics in Medicine*, vol. 29, pp. 2969-2983, 2010.
- [38] J. P. T. Higgins e S. G. Thompson, "Quantifying Heterogeneity in a Meta-Analysis," *Statistics in Medicine*, vol. 21, p. 1539–1558, 2002.
- [39] J. P. T. Higgins, S. G. Thompson, J. J. Deeks e D. G. Altman, "Measuring Inconsistency in Meta-Analyses," *BMJ: British Medical Journal*, vol. 327 (7414), p. 557–560, 2003.

- [40] M. Abramowitz e I. A. Stegun, *Handbook of Mathematical Functions with Formulas, Graphs, and Mathematical Tables*, New York: Dover Publications, 1965.
- [41] J. Anzures-Cabrera e J. P. T. Higgins, "Graphical Displays for Meta-Analysis: An Overview with Suggestions for Practice," *Research Synthesis Methods*, vol. 1, pp. 66-80, 2010.
- [42] L. Bax, N. Ikeda, N. Fukui, Y. Yaju, H. Tsuruta e K. Moons, "More Than Numbers: The Power of Graphs in Meta-Analysis," *American Journal of Epidemiology*, vol. 169 (2), pp. 249-255, 2008.
- [43] C.-H. Wang , C.-C. Fang, N.-C. Chen, S. S.-H. Liu, P.-H. Yu, T.-Y. Wu, W.-T. Chen, C.-C. Lee e S.-C. Chen, "Cranberry-Containing Products for Prevention of Urinary Tract Infections in Susceptible Populations - A Systematic Review and Meta-analysis of Randomized Controlled Trials," *Archives of Internal Medicine*, vol. 172 (13), pp. 988-996, 2012.
- [44] F. Song, "Exploring Heterogeneity in Meta-Analysis: Is the L'Abbé Plot Useful?," *Journal of Clinical Epidemiology*, vol. 52 (8), pp. 725-730, 1999.

Apêndice A – Valor esperado da estatística Q

Recorde-se que, como foi referido na secção 4.1, a estatística Q é dada pela equação seguinte

$$Q = \sum_{i=1}^k w_i (\hat{\theta}_i - \hat{\theta})^2. \quad (\text{A.1})$$

A partir desta equação é possível deduzir uma equação equivalente:

$$\begin{aligned} Q &= \sum_{i=1}^k w_i (\hat{\theta}_i - \hat{\theta})^2 = \sum_{i=1}^k w_i \left[(\hat{\theta}_i - \theta) - (\hat{\theta} - \theta) \right]^2 \\ &= \sum_{i=1}^k w_i (\hat{\theta}_i - \theta)^2 - 2(\hat{\theta} - \theta) \sum_{i=1}^k w_i (\hat{\theta}_i - \theta) + (\hat{\theta} - \theta)^2 \sum_{i=1}^k w_i \\ &= \sum_{i=1}^k w_i (\hat{\theta}_i - \theta)^2 - 2(\hat{\theta} - \theta) \left[\sum_{i=1}^k w_i \hat{\theta}_i - \sum_{i=1}^k w_i \theta \right] + (\hat{\theta} - \theta)^2 \sum_{i=1}^k w_i \\ &= \sum_{i=1}^k w_i (\hat{\theta}_i - \theta)^2 - 2(\hat{\theta} - \theta) \left[\sum_{i=1}^k w_i \cdot \frac{\sum_{i=1}^k w_i \hat{\theta}_i}{\sum_{i=1}^k w_i} - \sum_{i=1}^k w_i \theta \right] + (\hat{\theta} - \theta)^2 \sum_{i=1}^k w_i \\ &= \sum_{i=1}^k w_i (\hat{\theta}_i - \theta)^2 - 2(\hat{\theta} - \theta) \left[\hat{\theta} \sum_{i=1}^k w_i - \theta \sum_{i=1}^k w_i \right] + (\hat{\theta} - \theta)^2 \sum_{i=1}^k w_i \\ &= \sum_{i=1}^k w_i (\hat{\theta}_i - \theta)^2 - 2(\hat{\theta} - \theta)^2 \sum_{i=1}^k w_i + (\hat{\theta} - \theta)^2 \sum_{i=1}^k w_i \end{aligned}$$

de onde se pode escrever

$$Q = \sum_{i=1}^k w_i (\hat{\theta}_i - \theta)^2 - (\hat{\theta} - \theta)^2 \sum_{i=1}^k w_i. \quad (\text{A.2})$$

Utilizando esta expressão pode escrever-se o valor esperado de Q através da expressão:

$$E[Q] = \sum_{i=1}^k w_i E[(\hat{\theta}_i - \theta)^2] - E[(\hat{\theta} - \theta)^2] \sum_{i=1}^k w_i, \quad (\text{A.3})$$

sendo $E[(\hat{\theta}_i - \theta)^2]$ e $E[(\hat{\theta} - \theta)^2]$ dados a seguir:

$$\begin{aligned} E[(\hat{\theta}_i - \theta)^2] &= E[\hat{\theta}_i^2 - 2\hat{\theta}_i\theta + \theta^2] \\ &= E[\hat{\theta}_i^2] - 2E[\hat{\theta}_i] + \theta^2 \\ &= E[\hat{\theta}_i^2] - E[\hat{\theta}_i]^2 \\ &= \text{Var}[\hat{\theta}_i] \end{aligned} \quad (\text{A.4})$$

e, tendo em conta (3.39) da secção 3.2,

$$E\left[\left(\hat{\theta}_i - \theta\right)^2\right] = Var\left[\hat{\theta}_i\right] = \tau^2 + S_i^2 . \quad (\text{A.5})$$

De forma semelhante a (A.4) verifica-se que $E\left[\left(\hat{\theta} - \theta\right)^2\right] = Var\left[\hat{\theta}\right]$ e, por outro lado,

$$\begin{aligned} Var\left[\hat{\theta}\right] &= Var\left[\frac{\sum_{i=1}^k w_i \hat{\theta}_i}{\sum_{i=1}^k w_i}\right] = \frac{1}{\left(\sum_{i=1}^k w_i\right)^2} \cdot \sum_{i=1}^k w_i^2 \cdot Var\left[\hat{\theta}_i\right] \\ &= \frac{\sum_{i=1}^k w_i^2 (\tau^2 + S_i^2)}{\left(\sum_{i=1}^k w_i\right)^2} = \frac{\sum_{i=1}^k w_i^2 \tau^2 + \sum_{i=1}^k w_i}{\left(\sum_{i=1}^k w_i\right)^2} \end{aligned} \quad (\text{A.6})$$

De onde vem

$$E\left[\left(\hat{\theta} - \theta\right)^2\right] = Var\left[\hat{\theta}\right] = \frac{\sum_{i=1}^k w_i^2}{\left(\sum_{i=1}^k w_i\right)^2} \cdot \tau^2 + \frac{1}{\sum_{i=1}^k w_i} . \quad (\text{A.7})$$

Finalmente, substituindo (A.5) e (A.7) na expressão (A.3) obtém-se uma expressão para o valor esperado de Q ,

$$\begin{aligned} E[Q] &= \sum_{i=1}^k w_i (\tau^2 + S_i^2) - \left[\frac{\sum_{i=1}^k w_i^2}{\left(\sum_{i=1}^k w_i\right)^2} \cdot \tau^2 + \frac{1}{\sum_{i=1}^k w_i} \right] \cdot \sum_{i=1}^k w_i \\ &= \tau^2 \sum_{i=1}^k w_i + k - \tau^2 \frac{\sum_{i=1}^k w_i^2}{\sum_{i=1}^k w_i} - 1 \end{aligned} \quad (\text{A.8})$$

de onde se conclui

$$E[Q] = k - 1 + \tau^2 \left(\sum_{i=1}^k w_i - \frac{\sum_{i=1}^k w_i^2}{\sum_{i=1}^k w_i} \right) \quad (\text{A.9})$$

